

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 142 (2000)

Heft: 5

Artikel: Forschung aus der Abteilung Immunologie : die Bildung von Stickoxyd (NO) durch M bei Wiederkäuern

Autor: Jungi, T.W.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-591573>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Forschung aus der Abteilung Immunologie: Die Bildung von Stickoxyd (NO) durch M ϕ bei Wiederkäuern

T. W. Jungi

Abteilung Immunologie, Institut für Veterinär-Virologie der Universität Bern

Die Abteilung für Immunologie am Institut für Veterinär-Virologie ist verantwortlich für die tierärztliche Ausbildung in Immunologie auf allen Stufen (Grundstudium, PhD-Programm; Postgraduate- und Assistentenausbildung). Durch die regelmässigen Treffen im Schosse des Arbeitskreises Klinik und Immunologie (AKI), ins Leben gerufen durch die Abteilung Immunologie, wird ein enger Kontakt mit Klinikern mit Interesse an immunologischen Fragestellungen gepflegt. Unsere Abteilung ist massgeblich beteiligt am Unterricht in interdisziplinären Veranstaltungen (Ringvorlesung Immunologie für Fortgeschrittene, zusammen mit der medizinischen Fakultät) und in Praktika, die für Naturwissenschaftler und med. vet.-PhD-Kandidaten angeboten werden. In der Grundlagenforschung arbeitet sie nicht nur eng mit den anderen Forschungsgruppen des Instituts für Veterinär-Virologie zusammen, sondern kollaboriert in vielfältiger Weise mit anderen Instituten und Kliniken am Tierspital Bern sowie im Ausland. Das übergreifende Forschungsthema ist die *Funktion von grossen Fresszellen* (Makrophagen) bei Haustieren. Nachstehend ein kleiner Einblick in unsere Forschungsarbeit.

Makrophagen, Immunzellen mit zwei Gesichtern

Makrophagen (M ϕ) spielen bei der Abwehr gegen infektiöse Erreger eine wichtige Rolle. Diese Immunzellen tragen zur Erregerbekämpfung bei und fördern Reparation, Regeneration und Immunantwort. Sie dienen aber auch als Wirtszellen von Erregern mit intrazellulärer Lebensweise. Dabei können sie einerseits zur Verbreitung von Infektionserregern im Organismus beitragen. Andererseits vermögen sie sich bei geeigneter Aktivierung der Eindringlinge zu entledigen, doch führt dieser Kampf zu Reaktionen, die den Wirt krank machen, ja im Extremfall einen Schockzustand auslösen. Nachstehend sei auf eine Funktion von Wiederkäuer-M ϕ , die von Bakterien in Gang gesetzt wird und zum Abtöten von intrazellulären Erregern beiträgt, aber auch Krankheitssymptome auslösen kann, näher eingegangen.

Vielfältige physiologische Funktionen von NO

In höheren Wirbeltieren können mehrere Isoenzyme der sog. NO-Synthasen (NOS) aus Arginin das hoch reaktive Radikal Stickoxyd (NO) synthetisieren, das im Organismus vielfältige Aufgaben wahrnimmt: (I) NO aus Endothelzellen gilt als wichtigster blutdrucksenkender Mediator, da es die glatte Gefässmuskulatur zum Erschlaffen bringt. (II) NO gewisser Nervenzellen wirkt als Neurotransmitter. (III) In anderen Zellen, insbesondere in M ϕ , kann eine NO-Synthase nach geeigneter Stimulation neu gebildet werden (induzierbare NOS, iNOS), welche über längere Zeit grosse Mengen von NO produziert. Dieses ermöglicht die Abwehr gegen intrazelluläre Erreger, trägt andererseits aber auch zu einer Reihe von Infektions-assoziierten Krankheitssymptomen wie Immunsuppression, Kreislaufversagen, Absterben von Wirtsgewebe usw. bei. Somit ist M ϕ -stämmiges NO ein zweischneidiges Schwert. Die vielfältigen Rollen von NO führten 1992 zur Verleihung des Titels «NO, Molecule of the Year» durch das Wissenschaftsmagazin «Science», und 1998 zur Verleihung des Nobelpreises an drei NO-Forscher.

Spezies-Unterschiede in der NO-Bildung durch M ϕ *in vitro*

Die Bildung von NO durch M ϕ wurde vor allem in der Maus gut untersucht. Die zahlreichen Studien zeichneten ein klares Bild der iNOS-Induktion, Genaktivierung, Enzymaktivität und antimikrobiellen Wirkung von NO, welches zur Bekämpfung von Erregern aus den verschiedensten Gruppen (Viren, Bakterien, Pilze, einzellige und merzellige Parasiten) eingesetzt wird. Man weiss auch, bei welchen Krankheitssymptomen die iNOS einen Beitrag leistet, so etwa bei septischem Schock, Asthma, zerebraler Malaria, entzündlichen und degenerativen Erkrankungen des ZNS, Atherosklerose u.a.m. In scharfem Kontrast dazu steht das Wissen um die NO-Bildung menschlicher M ϕ . *In vitro* aktivierte humane M ϕ produzieren kaum messbares NO, gleichgültig wie sie aktiviert werden, und ob der NO-Weg für die antimikrobielle Abwehr von Bedeutung ist, bleibt unklar.

Dieser Unterschied rief nach Untersuchungen in anderen Tierarten. Eigene Studien zeigten, dass Rinder-M ϕ durchaus in der Lage sind, NO herzustellen, und dass dieses NO wie bei der Maus aus Arginin gebildet wird. Allerdings ergaben sich klare Unterschiede hinsichtlich der Faktoren, die in M ϕ iNOS-Produktion und NO-Bildung auslösen. In Rinder-M ϕ wird NO primär durch bakterielle Faktoren induziert, und Zytokine haben allenfalls eine regulierende Rolle. IFN- γ kann nicht wie bei Mäuse-M ϕ allein iNOS induzieren; es wirkt lediglich verstärkend. Interleukin-4 und Interleukin-10 wirken abschwächend, während weitere bei der Maus aktivierende oder hemmende Zytokine die Expression von iNOS durch Rinder-M ϕ nicht beeinflussen.

Im Unterschied zu Rinder-M ϕ konnten Ziegen- und Schaf-M ϕ nach Stimulation mit einer breiten Palette von Stimuli nur zur Synthese geringer NO-Mengen veranlasst werden. Ein Vergleich der verschiedenen Haustiere zeigte eine grosse Variation hinsichtlich der Fähigkeit von M ϕ zur NO-Synthese (Tab. 1).

Ist nun die Maus, die stets als Modell für immunologische Untersuchungen beigezogen wird, die Ausnahme und der Mensch die Regel, oder ist es umgekehrt? Und wenn der NO-Weg in M ϕ so wichtig ist für die antimikrobielle Abwehr, warum bedienen sich nicht alle Tierarten in gleichem Masse dieses biochemischen Weges? Dies ist die zentrale Frage unseres gegenwärtigen Forschungsprojektes.

Expression von iNOS bei infektiösen Prozessen *in vivo*

Es galt zu klären, ob iNOS *in vivo*, bei entzündlichen und infektiösen Prozessen, exprimiert ist. Mittels Immunhistochemie wurde dies bei einer Reihe bakterieller, viraler und parasitärer Infektionen in verschiedenen Spezies untersucht. Hier sei exemplarisch auf die *Listeria*-Enzephalitis einge-

gangen. Listeriose bei Wiederkäuern entsteht durch Aufnahme von Listerien mit kontaminierter Silage. Bakterien gelangen auf neuronalem Weg ins Gehirn, wo sie sich im Bereich des Hirnstamms schnell ausbreiten und rasch zum Tod des Tieres führen. Die Pathologie zeigt zwei charakteristische Arten von Läsionen: Mikroabszesse und perivaskuläre Infiltrate. Hirnmaterial zahlreicher Listeriosefälle aller hier interessierenden Spezies (Rind, Schaf, Ziege) aus der Tierneurologie wurden mittels Immunhistochemie untersucht. iNOS war stark exprimiert in Mikroabszessen; in Zellen der perivaskulären Infiltrate, auch in M ϕ , konnten weder Bakterien noch iNOS nachgewiesen werden. Dieses Bild fand sich bei Rindern ebenso wie bei Schafen und Ziegen; der Speziesunterschied, der bei M ϕ *in vitro* gefunden wurde, war *in vivo* viel geringer. Trotzdem zeigten sich auch Spezies-Unterschiede *in vivo*. Während in Rinderhirnen jeweils nur wenige Listerien sichtbar waren, waren diese bei kleinen Wiederkäuern in grosser Zahl nachweisbar und oft über ganze Hirnareale verbreitet. Wieviel NO gebildet wurde, lässt sich an den biochemischen Fussspuren in Form von Nitrotyrosin (NT) ablesen, die NO im Hirn hinterlässt. In den meisten Rinderhirnen fanden wir reichlich NT, jedoch streng co-lokalisiert mit iNOS. In Hirnen kleiner Wiederkäuer fanden wir nur iNOS, jedoch keine NT. Dies könnte den unterschiedlichen klinischen Verlauf der Listeriose erklären. Diese verläuft beim Rind weniger fulminant als bei kleinen Wiederkäuern und ist u.U. gar mit Antibiotica therapierbar. Allerdings können Unterschiede im Zeitpunkt der Euthanasie der Tiere nicht ausgeschlossen werden, da diesbezüglich nichts Gesichertes zu den untersuchten Fälle bekannt ist. Prospektive Studien werden hier aufschlussreich sein. iNOS ist nur in einer Unterpopulation von M ϕ exprimiert; diese weist wenige der für die Antigenpräsentation wichtigen MHC-Klasse-II-Moleküle auf. Dies erstaunte zunächst, da sowohl iNOS als auch MHC-II von IFN- γ hochreguliert werden. Den lokalen IFN- γ -Spiegel kennen wir nicht; jedoch scheinen für die Expression von iNOS Bakterien notwendig, aber nicht hinreichend zu sein: Nicht alle M ϕ in Mikroabszessen exprimieren iNOS. Insgesamt zeigen unsere Untersuchungen an Listeriose, dass iNOS-Expression *in vitro* und *in vivo* nicht gleichbedeutend sind, und dass *in vivo* streng arealabhängige Faktoren, welche die iNOS-Expression modulieren, einer Erklärung bedürfen. Ein Blick auf andere Infektionen zeigte, dass virale Infekte bei Haustieren im Unterschied zur Maus keine nennenswerte iNOS-Expression bewirken. Dies trifft auch für die Lunge zu. Während bei interstitiellen (viralen) Pneumonien keine iNOS nachweisbar war, war sie bei bakteriellen Lungen-

Tabelle 1: Tierartliche Unterschiede in der Fähigkeit von M ϕ zur NO-Synthese

Tierart	Induktion von NO-Bildung in M ϕ
Maus	+++
Ratte	+++
Kaninchen	+/-
Rind	+++
Ziege	+
Schaf	+
Pferd	+
Hund	+/-
Schwein	+/-
Huhn	++
Mensch	+/-

infektionen vorhanden, jedoch streng beschränkt auf einen Saum von Zellen, welcher das nekrotische Gewebe begrenzte.

Der iNOS-Promoter, ein Speziesvergleich

Unterschiede im Bereich des iNOS-Gen-Promoters wurden für die unterschiedliche NO-Synthesefähigkeit von Makrophagen des Menschen und der Maus verantwortlich gemacht. Ausgehend von einer genomischen DNA-Bank des Rindes haben wir etwa acht Kilobasen (kB) des iNOS-Gens kloniert und sequenziert. Diese umfassen einen Teil der kodierenden Sequenz, sowie 4,6 kB stromaufwärts im Bereich des Promoters. Die noch unveröffentlichte Genomanalyse zeigte, dass der iNOS-Promoter des Menschen und des Rindes sehr ähnlich sind, dass zwischen Rind und Maus jedoch grössere Unterschiede bestehen. Dies spricht eher gegen eine Korrelation von M ϕ -Ansprechbarkeit und Promoter-Merkmalen. Die erwähnten Speziesunterschiede scheinen komplexer zu sein und sind höchstwahrscheinlich durch differenzierungsabhängige Faktoren ausserhalb des iNOS-Gens bedingt.

Schlussfolgerung

Um die Rolle von NO, einem Produkt aktivierter M ϕ , zu verstehen, bedarf es einer Kombination von

Zellkulturanalysen, histopathologischen Untersuchungen und molekularen Methoden. Bei Haustierarten, bei denen experimentelle Studien weitgehend ausgeschlossen sind, ist der Erkenntnisgewinn langsam. Auf der anderen Seite zeigt gerade das Beispiel der M ϕ -abhängigen NO-Produktion, dass Erkenntnisse aus der Maus nicht ohne weiteres auf Mensch oder Haustiere übertragen werden dürfen, und dass auch Untersuchungen an Wiederkäuern wertvolle neue Erkenntnisse liefern. Immunhistochemische Untersuchungen machen am Beispiel der Hirnlisteriose bei Wiederkäuern deutlich, dass die Expression von iNOS streng kompartmentalisiert ist. Wir hoffen, noch ungelöste Fragen zur Steuerung dieser Kompartimentalisierung in prospektiven Studien an erkrankten Tieren, die aufgrund einer Verdachtsdiagnose überwiesen werden, zu beantworten.

Danksagung

Diese Arbeiten wurden vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. Sie beruhen auf fruchtbarer Zusammenarbeit mit den Instituten für Tierneurologie und Tierpathologie. Diese Beiträge sowie die ausgezeichnete Arbeit von früheren und gegenwärtigen Doktoranden und Laborantinnen der Abteilung Immunologie seien herzlich verdankt.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. T.W. Jungi
Institut für Veterinär-Virologie der Universität Bern
Länggass-Str. 122
CH-3012 Bern
Tel. 031 631 24 04
Fax 031 631 25 34
E-Mail: thomas.jungi@ivv.unibe.ch

DIANA VETERA  **eMAIL INBEGRIFFEN**  *

ZÜRICH FRANKFURT LINDAU *SOFTWARE-INSTALLATION DIANA INKL. GRATIS INTERNET-STARTERKIT

SEMIR AG | Veterinärinformatik | Gutstrasse 3 | CH-8055 Zürich | Telefon 01 450 5454 | Telefax 01 450 5445 | www.diana.ch | office@diana.ch