

David gegen Goliath

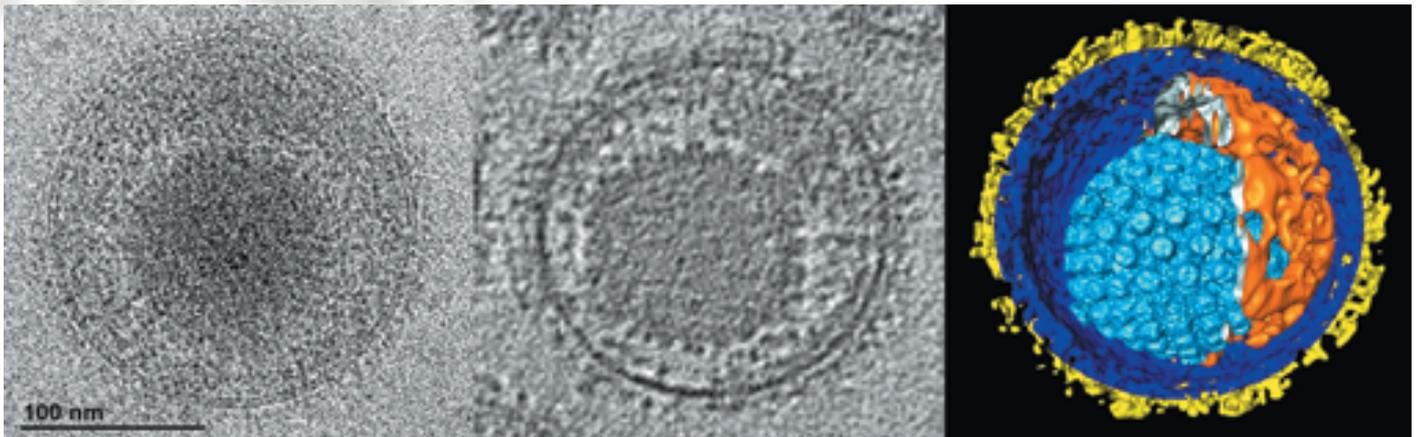
Wie Viren das Immunsystem überlisten

Von Christian Schölz und Robert Tampé

Infektionen mit Herpesviren sind bereits seit der Antike bekannt. So beschrieb zum Beispiel schon Hippokrates in seinem »Corpus Hippocraticum« die sich auf der Haut ausbreitenden Herpes Simplex Läsionen und gab der Krankheit ihren bis heute gültigen Namen. Verbürgt ist auch, dass der römische Kaiser Tiberius vor etwa 2000 Jahren während einer auftretenden Herpes labialis-Epidemie das Küssen bei öffentlichen Zeremonien per Dekret verbat. Shakespeare war ebenfalls bestens vertraut mit den periodisch auftretenden Herpes-Bläschen; in seinem Werk »Romeo & Julia«

1 Architektur des Herpes simplex-Virus 1 im elektronenmikroskopischen Bild (links), Schnitt durch das rekonstruierte und entrauschte Tomogramm (Mitte) und nach Segmentierung der Hauptbestandteile aus dem Tomogramm (rechts). Alle Teilabbildungen im selben Maßstab.

spricht Mercutio zu Romeo: »O'er ladies lips, who straight on kisses dream, which oft the angry Mab with blisters plagues, ...« Doch erst in den 1960er Jahren erkannte man die virale Herkunft der Erkrankung.



Heutzutage sind insgesamt acht verschiedene Vertreter der humanen Herpesviren bekannt, unter ihnen, neben dem zuvor beschriebenen Herpes Simplex Virus (HSV), das Windpocken auslösende Varizella-Zoster Virus (VZV) oder das Epstein-Barr-Virus (EBV), welches das Pfeiffersche Drüsenfieber verursacht **2**. Allen Herpesviren ist die Fähigkeit zur Ausbildung viraler Persistenz gemeinsam, das heißt das lebenslange Überleben in einem Wirt. Diese latenten Infektionen konnten in den letzten Jahren hinsichtlich ihrer molekularbiologischen Mechanismen, die es den Viren ermöglichen, sich dem Immunsystem zu entziehen, zunehmend besser charakterisiert werden.

Zelluläre Mechanismen der Immunabwehr

Höhere Organismen sind tagtäglich der Bedrohung durch Pathogene wie Bakterien, Pilze, Parasiten oder Viren, aber auch Krebszellen, ausgesetzt. Das Immunsystem des Körpers unterliegt dabei einem scheinbar äußerst komplexen Problem: Infektionen oder Mutatio-

nen finden direkt innerhalb der jeweiligen Zielzellen statt. Um nun einen »Blick« in das Innere der betroffenen Zellen werfen zu können, hat sich ein einfacher und außerordentlich effizienter Mechanismus entwickelt. Während des gesamten Lebens einer Zelle werden fortwährend nicht mehr benötigte beziehungsweise fehlgefaltete Proteine gebildet und wieder abgebaut. Die Degradation der Proteine erfolgt dabei in einem makromolekularen Proteinkomplex, dem so genannten Proteasom. Das Proteasom bildet in der Zelle ein von der Umgebung abgeschlossenes Kompartiment, in dem für den Abbau bestimmte Proteine in kleinere Fragmente »zerlegt« werden. Um ein Abbild des gesamten Proteoms, also der Gesamtheit aller zu einem bestimmten Zeitpunkt vorhandenen Proteine der Zelle zu erhalten, werden stichprobenartig einzelne Proteinfragmente (Peptide) dem innerhalb der Zelle stattfindenden vollständigen Recycling der Proteine entzogen. Durch einen ausgeklügelten Transportmechanismus gelangen diese an die Zelloberfläche, wo sie von Immunzellen inspiziert werden.

Zunächst gelangen hierbei die Peptide mit Hilfe des membranständigen Transportkomplexes TAP (*transpor-*

ter associated with antigen processing) aus dem Cytosol ins Endoplasmatische Retikulum, wo sie unter Beteiligung weiterer Proteine des Peptidbeladungskomplexes (PLC)^{2,3/} auf spezielle Cargomoleküle übertragen werden. Diese auch als Haupt-Gewebeverträglichkeitskomplexe der Klasse I (MHC-I) bezeichneten Moleküle binden spezifisch die antigenen Peptide auf ihrer Oberfläche. Stabile MHC-Peptid-Komplexe gelangen daraufhin über den sekretorischen Weg an die Zelloberfläche, wo sie von Effektorzellen des Immunsystems (natürliche Killerzellen, cytotoxische T-Lymphozyten (CTL)) auf ihre »Fracht« hin untersucht werden^{4/}. Im Falle einer viralen Infektion oder einer bösartigen Veränderung der Zelle gelangen auf diese Weise auch große Mengen an Proteinbruchstücken an die Oberfläche, die viraler beziehungsweise Tumor-abhängiger Herkunft sind. Solche Zellen werden dann durch CTLs spezifisch erkannt und deren Zerstörung (Apoptose) eingeleitet **3**.

Virale Persistenz

Wie das Immunsystem sich immer wieder neu den jeweiligen Verhältnissen anpassen muss, so durchlaufen auch Viren coevolutive Entwicklungen, um der vorzeitigen Entdeckung durch das Immunsystem entgehen zu können^{5,6/}. Dabei hat sich eine Vielzahl von verschiedenen hochwirksamen molekularen Mechanismen entwickelt, von denen einige im Folgenden näher vorgestellt werden sollen.

Eine relativ simple Strategie ist die schnelle Replikation des Virus (zirka drei bis fünf Tage) innerhalb der Zielzelle, so dass hierbei eine ausreichende Antwort des adaptiven Immunsystems ausbleibt. Derartig schnell re-

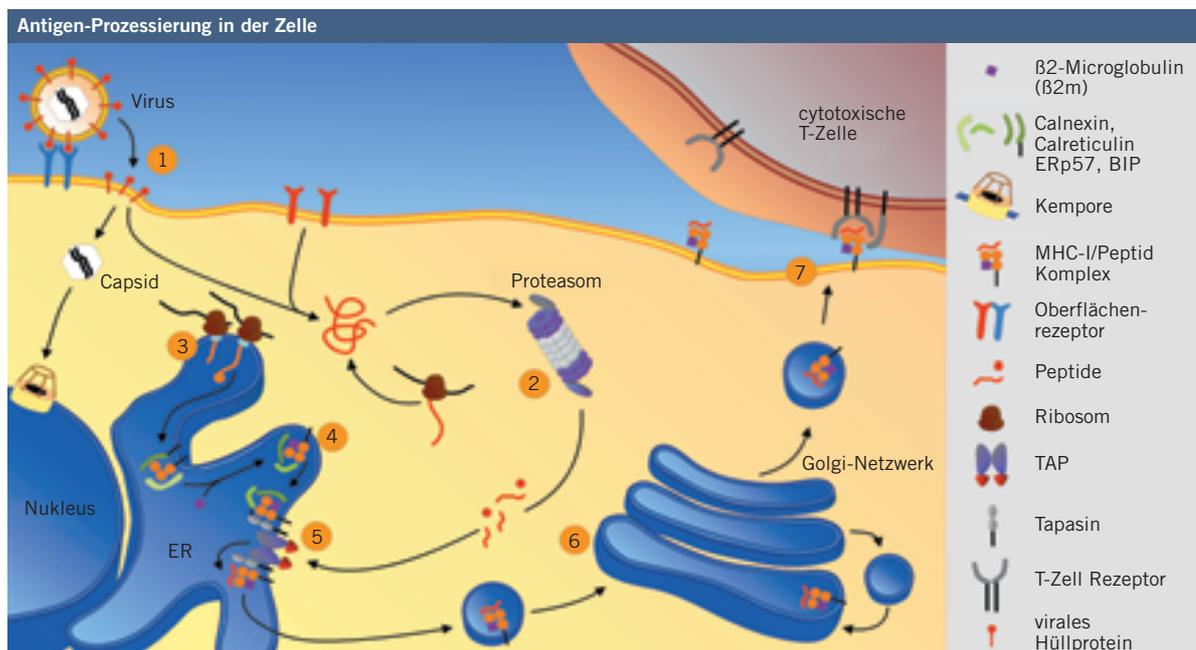
| Durch Herpesviren verursachte Krankheiten | | | |
|---|--------------|---------------------------------|---|
| Herpesvirus | Unterfamilie | Viraler Faktor | Krankheitsbild |
| HHV-1: Herpes simplex Typ 1 (HSV-1) | Alpha | ICP47 | Herpes simplex, Herpes labialis, Stomatitis aphthosa |
| HHV-2: Herpes simplex Typ 2 (HSV-2) | Alpha | ICP47 | Herpes simplex, Herpes genitalis |
| HHV-3: Varizella-Zoster Virus (VZV) | Alpha | ORF66, (UL49.5) | Windpocken, Gürtelrose |
| HHV-5: Cytomegalovirus (HCMV) | Beta | US2, US3, US6, US10, US11, UL18 | CMV-Pneumonie, CMV-Sialoadenitis, Kolitis |
| HHV-6: Humanes Herpes-Virus-6 | Beta | U90 | Drei-Tage-Fieber (Exanthema subitum) |
| HHV-7: Humanes Herpes-Virus-7 | Beta | U21 | Drei-Tage-Fieber (Exanthema subitum) |
| HHV-4: Epstein-Barr Virus (EBV) | Gamma | EBNA-1 | Pfeiffersches Drüsenfieber, Nasopharynxkarzinom, Non-Hodgkin-Lymphome |
| HHV-8: Humanes Herpes-Virus-8 | Gamma | K3, K5 | Kaposi-Sarkom |

2 Die heute bekannten Herpesviren und die durch sie verursachten Krankheiten.

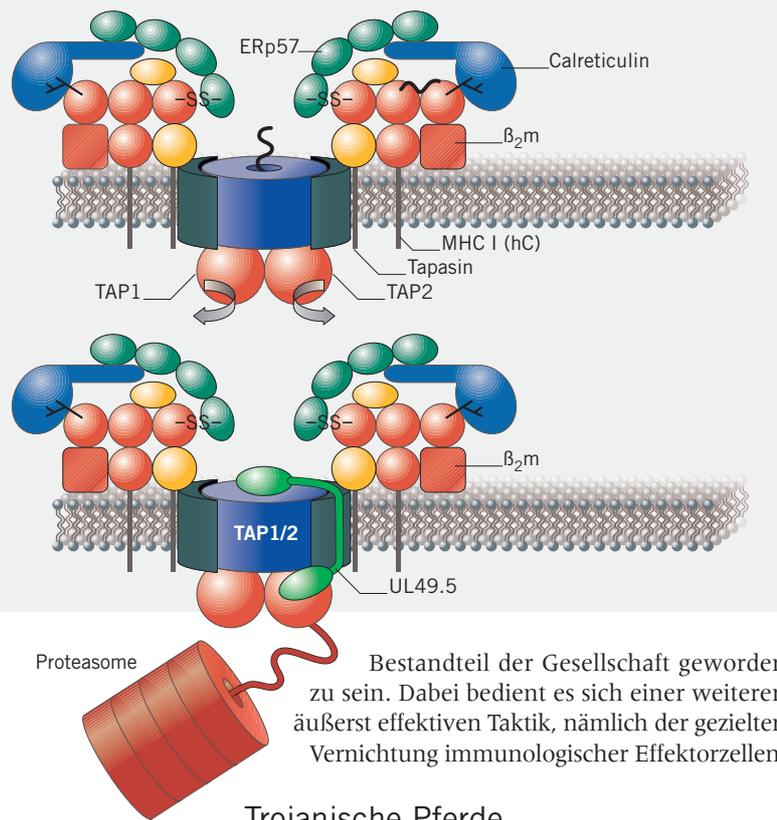
plizierende Viren besitzen meist ein verhältnismäßig kleines Genom; zu ihnen gehören Filoviren, wie Ebola oder das ebenfalls hochansteckende Marburg-Virus, welche unter anderem schwere Blutungen, so genannte Hämorrhagien, und ein multiples Organversagen bewirken. Derartige Virusinfektionen verlaufen zwar lokal gesehen meist recht heftig mit Mortalitätsraten von bis zu 90 Prozent, jedoch erreichen solche Erreger nie eine dauerhafte Durchseuchung der Bevölkerung.

Das für die Immunschwächekrankheit AIDS verantwortliche HI-Virus hingegen scheint derzeitigen Berechnungen zufolge längst in weiten Teilen der Welt fester

3 Antigen-Prozessierung: Viren binden mittels zellspezifischer Rezeptoren an die Zielzelle (1). Nicht mehr benötigte beziehungsweise fehlgefaltete, virale oder Tumor-assoziierte Proteine werden für den Abbau gekennzeichnet (poly-ubiquitiniert) und anschließend durch das Proteasom abgebaut (2). Neu erschaffene MHC-I-Moleküle (3) werden im Endoplasmatischen Retikulum (ER) in Anwesenheit von molekularen Anstandsdamen, den so genannten Chaperonen (Calnexin, Calreticulin) gefaltet und mit Mikroglobulin ($\beta 2m$) assoziiert (4). Der vorläufige Komplex lagert sich zusammen mit Tapasin an den Peptidtransporter TAP an und bildet so den makromolekularen Peptid-Beladungskomplex PLC aus (5). Peptide werden unter ATP-Verbrauch durch TAP aus dem Cytosol ins ER gepumpt und auf MHC-I-Moleküle übertragen (5). Peptid-stabilisierte MHC-I-Moleküle gelangen über den sekretorischen Weg (6) an die Zelloberfläche und werden dort von T-Zellen inspiziert (7).



Komponenten des Peptidbeladungskomplexes



Trojanische Pferde

Im Gegensatz dazu finden sich bei Viren mit einem großen Genom, wie beispielsweise Herpesviren, Adenoviren oder Retroviren andere Strategien, um sich der Kontrolle durch das Immunsystem zu entziehen. Diese beruhen auf der gezielten Interaktion mit Schlüsselstellen des MHC-I-Wegs, also der Sabotage der Präsentation endogener Peptide, um »Trojanischen Pferden« gleich innerhalb des Wirts unentdeckt verweilen zu können.

Eine erste Möglichkeit der Interaktion mit dem MHC-I-Weg besteht in der Inhibition des proteolytischen Abbaus viraler, antigener Proteine durch das Proteasom. Dieser Mechanismus liegt der Latenzphase des Epstein-Barr-Virus (EBV) zu Grunde, in welcher Proteine, die der Etablierung und Aufrechterhaltung des

4 Der Peptidbeladungskomplex (PLC). Oben: Schematische Darstellung der Komponenten des PLC, bestehend aus TAP1/TAP2, Tapasin, MHC-I, Calreticulin und Erp57. Dabei binden vermutlich jeweils vier Komplexe aus Tapasin, MHC-I, Calreticulin und Erp57 an einen TAP-Transporter (links). Unten: Virale Inhibition. Das Protein UL49.5 (BHV-1) bindet an TAP und inhibiert den Transport von antigenen Peptiden. Zusätzlich wird die proteasomale Degradation des gesamten Komplexes initiiert (rechts).

nichtproduktiven viralen Zyklus dienen, exprimiert werden. Beim EBV ist dies zum Beispiel das *Epstein-Barr-Virus nuclear antigen 1* (EBNA1). Es dient zum einen der Steuerung der episomalen Replikation, also der Vermehrung des viralen Genoms innerhalb des Wirtszell-Genoms, und zum anderen kann das aus Wiederholungen der Aminosäuren Glycin und Alanin bestehende Protein mit Hilfe dieser repetitiven Sequenzen sich selbst, aber auch andere proteasomale Substrate vor der Degradation schützen. Dies geschieht, indem es das Glycin-Alanin-Motiv auf bisher noch ungeklärte Weise auf geeignete Substrate überträgt⁷⁷. Ein detaillierteres Verständnis der Epstein-Barr-Infektion könnte helfen, die Frage zu beantworten, wie Autoimmun-Krankheiten entstehen, da seit einiger Zeit unter anderem ein Zusammenhang zwischen EBV und Multipler Sklerose propagiert wird. Mittels serologischer Tests konnten nämlich bei allen MS-Patienten Antikörper gegen das Epstein-Barr-Virus nachgewiesen werden.

Blockierung des Peptidtransports

Das humane Cytomegalie-Virus (HCMV), das – insbesondere bei immunsupprimierten Patienten – zum Beispiel nach Organtransplantationen Probleme bereitet, blockiert gezielt, durch Inhibition des Transportkomplexes TAP, den Transport von antigenen Peptiden an die Zelloberfläche. Dabei bindet das während der frühen Phase des Replikationszyklus exprimierte Protein US6 (*Unique Short Region 6*) an den Peptidtransporter und sabotiert die Bindung von ATP, welches für die Energetisierung des Transports essenziell ist⁷⁸. Auch das früh translatierte Genprodukt ICP47 des Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1) interagiert gezielt mit dieser Schlüsselstelle der intrazellulären Antigen-Prozessierung, indem

Die Autoren



Prof. Dr. Robert Tampé, 44, studierte Chemie an der TU Darmstadt, wo er im 1989 in Biochemie promovierte. An der Stanford University forschte er zusammen mit Prof. Dr. Harden M. McConnell an der Struktur und Funktion von MHC Klasse II-Komplexen. Von 1992 bis 1998 leitete er am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried eine Forschergruppe und betreute gleichzeitig eine Arbeitsgruppe am Institut für Biophysik der TU München, wo er 1996 in Biochemie habilitierte. Anschließend erhielt er ein Heisenberg-Stipendium der Deutschen Forschungsgemeinschaft. 1997 wurde er auf den Lehrstuhl für Physiologische Chemie des Klinikums der Philipps-Universität Marburg berufen. Im Jahr 2001 folgte er dem Ruf auf eine Professur an das Institut für Biochemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität. Er ist Sprecher des

2003 gegründeten Sonderforschungsbereichs 628 »Functional Membrane Proteomics – From Membrane Transporters to Dynamic Assemblies and Networks« sowie Mitgründer und Vorstandsmitglied des »Center for Membrane Proteomics (CMP)«. Seine Hauptforschungsinteressen liegen in den Bereichen der Biochemie und Biophysik biologischer Membranen, der molekularen Immunologie, intrazellulären Transportprozesse sowie der Nanobiotechnologie.

Christian Schölz, 26, studierte von 2000 bis 2005 Biochemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt. Seine Diplomarbeit bei Prof. Dr. Robert Tampé am Institut für Biochemie zum Thema »Inhibitionsmechanismus des Genproduktes UL49.5 von Herpesviren« wurde mit dem Procter&Gamble Förderpreis 2005 ausgezeichnet. In seiner Doktorarbeit widmet er sich funktionalen Aspekten der intrazellulären Antigenprozessierung.

es um die Peptidbindungsstelle konkurriert^{/9/}. Virologen gehen davon aus, dass etwa 85 Prozent der Bevölkerung weltweit mit dem HSV-1 Erreger infiziert sind. Etwa 30 Prozent der Infizierten haben wiederkehrende Infektionen, und bei circa einem Prozent der Virusträger flammt die latente Herpesinfektion einmal pro Monat auf. Dabei verbleibt das Virus nach einer erfolgreichen Primärinfektion in sensorischen Nervenganglien, wo es durch bestimmte Einflüsse, zum Beispiel Immunsuppression, Stress, Krankheit, Hormonschwankungen, UV-Strahlung erneut aktiv wird und wiederholt Epithelzellen befällt – wodurch eine neue akute Herpeserkrankung ausgelöst wird. Da das Immunsystem nur die akute Erkrankung bekämpft, nicht aber die Viren in den Nervenzellen, verbleiben Herpesviren lebenslang im infizierten Organismus.

Interaktion mit MHC-I-Molekülen

Auch die Interaktion mit MHC-I-Komplexen kann die erfolgreiche Präsentation viraler Antigene unterbinden. So binden beispielsweise die beiden membranständigen Glycoproteine des humanen Cytomegalie Virus (HCMV) US2 und US11 an neu synthetisierte MHC-Klasse-I-Moleküle und sabotieren deren molekularen Transport an die Zelloberfläche. Dabei werden die MHC-I-Komplexe aus dem ER ausgeschleust (Retrotranslokation) und deren proteasomale Degradation eingeleitet. Auch das HI-Virus bedient sich molekularer Faktoren, die die Observierung durch das Immunsystem unterbinden. Das Hilfsprotein *nef* (*negative factor*) bindet an der Zelloberfläche an MHC-Peptid-Komplexe und leitet deren Endocytose (Aufnahme in die Zelle) ein. Nef vermittelt hierbei das Einstülpen der Membran zusammen mit den MHC-I-Komplexen und ermöglicht so die Aufnahme der Moleküle in intrazelluläre Vesikel. Die so internalisierten Antigen-Komplexe werden anschließend für die Degradation gekennzeichnet (monoubiquitiniert) und in Lysosomen weitergeleitet. Innerhalb dieser mit Säure angefüllten Zellorganellen findet dann der proteolytische Abbau der MHC-I-Moleküle durch Proteasen statt.

Auch die Bildung von MHC-I-Attrappen ist ein beobachtetes Phänomen. So bildet zum Beispiel das humane

Cytomegalie Virus-Protein UL18 zusammen mit dem körpereigenen Mikroglobulin $\beta 2m$ und zellulären Peptiden einen stabilen Komplex. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) verwechseln diesen mit normalen MHC-I-Molekülen und greifen daher die Zelle nicht an. Dies hat gleich mehrere Vorteile: Zum einen bemerkt das Immunsystem nicht, dass eine Infektion der Zelle vorliegt, und zum anderen verhindert das Virus auf diese Weise, dass das Immunsystem Verdacht schöpft. Gelangen nämlich überhaupt keine Proteinfragmente mehr an die Zelloberfläche, so führt dies ebenfalls zur Vernichtung (Apoptose) der Zelle durch Natürliche Killer (NK)-Zellen.

Doppelt hält besser

Erst kürzlich konnte ein weiterer bis dahin noch unbekannter viraler Inhibitor identifiziert werden. Das Genprodukt UL49.5 des bovinen Herpes-Virus-1 (BHV-1) blockiert gezielt den Transport antigener Peptide, indem es den Transportkomplex TAP in einem Zwischenschritt des Transports fixiert. Zusätzlich scheint UL49.5 den proteasomalen Abbau des gesamten Peptidbeladungskomplexes zu initiieren^{/10/}. Bis jetzt konnte zwar noch kein humanes Funktionshomologes entdeckt werden, doch ist anzunehmen, dass nicht nur tierische Herpesviren einen solchen Mechanismus verwenden.

Chancen und Möglichkeiten

Die Charakterisierung viraler Inhibitoren sowie ein detaillierteres Studium zum Verständnis der molekularen Mechanismen viraler immunreaktiver Moleküle bieten einen tiefen Einblick in essenzielle Stellen des intrazellulären Immunsystems. Durch Verwendung viraler Inhibitoren als biochemische Werkzeuge ist es Forschern erstmals möglich, Schlüsselpositionen des intrazellulären Proteintransports gezielt zu untersuchen. Neben dem Erkenntnisgewinn über biomolekulare Abläufe in Zellen birgt die Verwendung viraler Inhibitoren zur Entwicklung neuartiger Impfstoffe oder Behandlungstherapien noch ungeahnte neue Möglichkeiten. So ist beispielsweise die Verwendung der Inhibitoren im Bereich der Organtransplantation zur Unterdrückung von Abstoßungsreaktionen vorstellbar. ♦

Literatur:

| | | | | | | |
|--|---|--|---|--|--|---|
| ^{/1/} K. Grünewald, P. Desai, D. C. Winkler, J. B. Heymann, D. M. Belnap, W. Baumeister, A. C. Steven, Three-Dimensional Structure of Herpes Simplex Virus from Cryo-Electron Tomography, <i>Science</i> 2003, 302: Seiten 1396 – 1398. | ^{/3/} J. Koch & R. Tampé, The molecular peptide-loading complex in MHC class I-dependent antigen presentation, <i>Cell. Mol. Life. Sci.</i> , 2006 Mar; 63(6): 653 – 62. | ^{/5/} H. Momburg & H. Hengel, Corking the bottleneck: the transporter associated with antigen processing as a target for immune subversion by viruses, <i>Curr. Top. Microbiol. Immunol.</i> 2002, 269: Seiten 57 – 74. | ^{/6/} S. Loch & R. Tampé, Viral evasion of the MHC class I antigen-processing machinery, <i>Pflugers Arch.</i> , 451(3): Seiten 409 – 417. | ^{/7/} J. Levitskaja, A. Sharipo, A. Leonchicks, A. Ciechanover, M. G. Masucci, Inhibition of ubiquitin/proteasome-dependent protein degradation by the Gly/Ala repeat domain of the Epstein-Barr virus nuclear antigen 1, <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 1997, 94: Seiten 12616 – 12621. | ^{/9/} K. Ahn, T. H. Meyer, S. Uebel, P. Sempe, H. Djabalalah, Y. Yang, P. A. Peterson, K. Früh, R. Tampé, Molecular mechanism and species specificity of TAP inhibition by herpes simplex virus ICP47, <i>EMBO J.</i> 1996, 15(13), Seiten 3247 – 3255. | D. van Leeuwen, K. Bienkowska-Szewczyk, T. C. Mettenleiter, F. A. M. Rijsewijk, R. Tampé, J. Neefjes, E. J. H. J. Wiertz, Varicelloviruses avoid T cell recognition by UL49.5-mediated inactivation of the transporter associated with antigen processing, <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 2005, 102(14): Seiten 5144 – 5149. |
| ^{/2/} R. Abele & R. Tampé, The ABCs of immunology: structure and function of TAP, the transporter as- | ^{/4/} M. Gromme & J. Neefjes, Antigen degradation or presentation by MHC | | | ^{/8/} C. Kyritsis, S. Gorbulev, S. Huttschenreiter, K. Pawlitschko, R. Abele, R. Tampé, Molecular mechanism and structural aspects of TAP inhibition by the cytomegalovirus protein US6, <i>J. Biol. Chem.</i> 2001, 51, Seiten 48031 – 48039. | ^{/10/} D. Koppers-Lalic, E. A. J. Reits, M. E. Rensing, A. D. Lipinska, R. Abele, J. Koch, M. M. Reazende, P. Admiraal, | |