

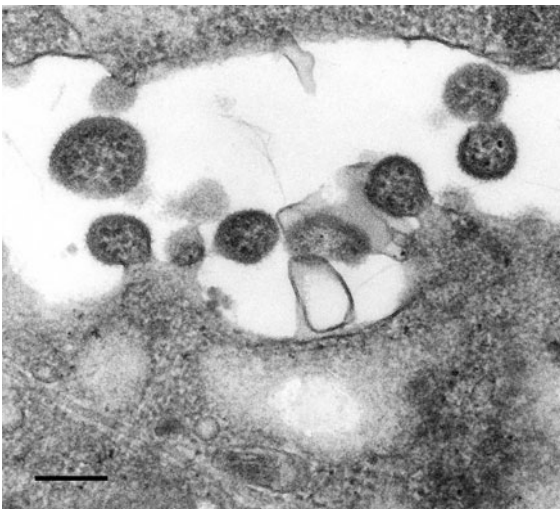
16

Viren mit einzelsträngigem, segmentiertem RNA-Genom in Negativstrangorientierung

Bis heute sind drei Virusfamilien bekannt, deren Vertreter ein RNA-Genom mit negativer Orientierung besitzen, das in den infektiösen Viruspartikeln nicht als ein kontinuierliches Molekül, sondern in mehreren Segmenten vorliegt. Es handelt sich um die *Arenaviridae*, die *Bunyaviridae* und die *Orthomyxoviridae*. Ähnlich wie die Mononegavirales (► Kapitel 15) benötigen auch sie für die Synthese der mRNA und für die Replikation ein spezielles Enzym, das zusammen mit weiteren Viruskomponenten bei der Infektion in die Zelle gelangt: die RNA-abhängige RNA-Polymerase. Ein in Segmenten vorlie-

gendes Genom ermöglicht den Viren die Bildung von *Reassortanten*. Hier werden die RNA-Moleküle bei Doppelinfektionen von Zellen mit unterschiedlichen Virustypen während der Replikation und der Morphogenese gemischt. Die Nachkommenviren können so Neukombinationen der RNA-Segmente und damit neue Eigenschaften erhalten. Besonders häufig und gut untersucht ist dieser Mechanismus, der als *antigenic shift* bezeichnet wird, bei den Influenza-A-Viren, den Erregern der Virusinfluenza oder echten Grippe (► Abschnitt 16.3).

16.1 Arenaviren



Die *Arenaviren*, die überwiegend in Südamerika und Afrika verbreitet sind, verursachen bei ihren natürlichen Wirten, den Nagetieren, überwiegend persistierende Infektionen, und werden von diesen mit dem Urin und Speichel ausgeschieden. Bei Kontakt mit dem Blut oder kontaminierten Ausscheidungsprodukten können einige der Arenaviren Menschen infizieren und *fiieberhafte, hämorrhagische Erkrankungen* verursachen. Beispiele sind die Junin- und Lassaviren als Erreger des argentinischen hämorrhagischen Fiebers beziehungsweise des Lassafiebers. Der Prototyp der Familie ist das *Virus der lymphocytären Choriomeningitis* (LCMV), das in der Hausmaus (*Mus musculus*) vorkommt und in seltenen Fällen beim Menschen eine akute aseptische Meningitis verursacht. Die LCMV-Infektion der Maus stellt heute ein wichtiges, gut etabliertes System zur Untersuchung der Immunantwort dar. Der Name der Arenaviren ist vom lateinischen Wort *arena* (Sand) abgeleitet und weist auf die körnige (granuläre) Struktur hin, welche die Viruspartikel in elektronenmikroskopischen Aufnah-

men besitzen. Diese erhalten die Virionen durch Ribosomen, die sie bei der Morphogenese aufnehmen.

16.1.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Die *Arenaviridae* umfassen nur ein Genus (Arenavirus). Man kennt bis heute 23 Virustypen, die aufgrund ihrer geographischen Verbreitung in Arenaviren der „alten Welt“ (Serokomplex Lassa-Lymphocytäre Choriomeningitis) – in Europa, Asien oder Afrika verbreitet – und die auf dem amerikanischen Kontinent vorkommenden Viren der „neuen Welt“ (Serokomplex Tacaribe) eingeteilt werden (► Tabelle 16.1). Das LCMV kommt als ein-

ziges humanpathogenes Arenavirus weltweit vor. In Afrika verursacht das *Lassavirus* beim Menschen schwere, oft tödlich verlaufende hämorrhagische Fieber. Die Neuweltarenaviren, die aufgrund ihrer serologischen Eigenschaften in drei Linien (*Clades A-C*) unterteilt werden, kommen ausschließlich auf dem amerikanischen Kontinent vor. Humanpathogene Viren der Linie A sind in Nordamerika (Whitewater-Arroyo-Virus) und Südamerika (Flexalvirus) vertreten. Daneben existieren in Südamerika die *Junin-*, *Machupo-* und *Guanaritoviren* (Linie B) als Erreger des argentinischen, des bolivianischen und des venezolanischen hämorrhagischen Fiebers beim Menschen. Ein weiteres humanpathogenes Arenavirus, das *Sabiavirus*, konnte in Brasilien identifiziert werden. Sein natürlicher Wirt ist unbekannt. Das auf Trinidad vorkommende Tacaribevirus

Tabelle 16.1 Charakteristische Vertreter der Arenaviren

Genus	Serogruppe	Mensch	Tier	natürlicher Wirt	
Arenavirus	Altweltviren (Serogruppe Lassa-Lymphocytäre Choriomeningitis)	LCMV ^a	LCMV	<i>Mus musculus</i>	
		Lassavirus	Lassavirus	<i>Mastomys natalensis</i>	
			Mopeiavirus	<i>Mastomys natalensis</i>	
			Mobalavirus	<i>Praomys jacksonii</i>	
			Ippyvirus	<i>Arvicanthus</i> spp.	
	Neuweltviren (Serogruppe Tacaribe) Linie A (Nordamerika)	Whitewater-Arroyo-Virus	Whitewater-Arroyo-Virus	<i>Neotoma albigula</i> <i>N. mexicana</i> <i>N. micropus</i> , <i>N. cinera</i>	
			Taniamivirus	<i>Sigmodon hispidus</i>	
			Bear-Canyon-Virus	<i>Peromyscus</i> spp.	
	Linie A (Süd-/Mittelamerika)	Flexalvirus	Flexalvirus	<i>Oryzomys</i> spp.	
			Pichindevirus	<i>Oryzomys albigularis</i>	
Piritavirus			<i>Sigmodon alstoni</i>		
Paranavirus			<i>Oryzomys buccinatus</i>		
Allpahuayovirus			<i>Oecomys bicolor</i>		
Linie B (Südamerika)	Machupovirus Guanaritovirus Sabiavirus Juninvirus	Machupovirus	Machupovirus	<i>Calomys callosus</i>	
		Guanaritovirus	Guanaritovirus	<i>Sigmodon hispidus</i>	
		Sabiavirus	Sabiavirus	unbekannt	
		Juninvirus	Juninvirus	<i>Calomys musculinus</i>	
	Tacaribevirus	Amaparivirus	Amaparivirus	<i>Oryzomys capito</i> , <i>Neacomys guineae</i>	
			Cupixivirus	<i>Oryzomys capito</i>	
Linie C (Südamerika)	–	–	Tacaribevirus	<i>Artibeus</i> spp. ^b	
			Latinovirus	Latinovirus	<i>Calomys callosus</i>
			Oliverovirus	Oliverovirus	<i>Bolomys obscurus</i>
		Pampavirus	Pampavirus	<i>Bolomys</i> spp.	

In der Spalte „Mensch“ sind die Virustypen aufgeführt, die nachweislich das Potenzial haben, Menschen zu infizieren. Sie wurden meist aus Patienten isoliert. In der Spalte „Tier“ sind die Viren angegeben, die als tierpathogen beschrieben wurden. In der letzten Spalte sind die Tierarten angegeben, welche die natürlichen Wirte der jeweiligen Virustypen darstellen; in ihnen persistieren die Viren und werden von ihnen übertragen.

^a Virus der lymphocytären Choriomeningitis, ^b fruchtfressende Fledermausart.

infiziert im Unterschied zu den anderen Arenaviren nicht Nagetiere als natürliche Wirte, sondern fruchtfressende Fledermäuse. Außer diesen hat man in verschiedenen Nagetieren eine Reihe von Arenaviren nachweisen können, von denen bisher keine humanpathogenen Eigenschaften beschrieben worden sind (► Tabelle 16.1). Auch die Neuweltarenaviren der Linie C (Latino-, Pampa-, Oliverosvirus) wurden bislang nur aus Nagetieren in Argentinien und Bolivien isoliert.

16.1.2 Aufbau

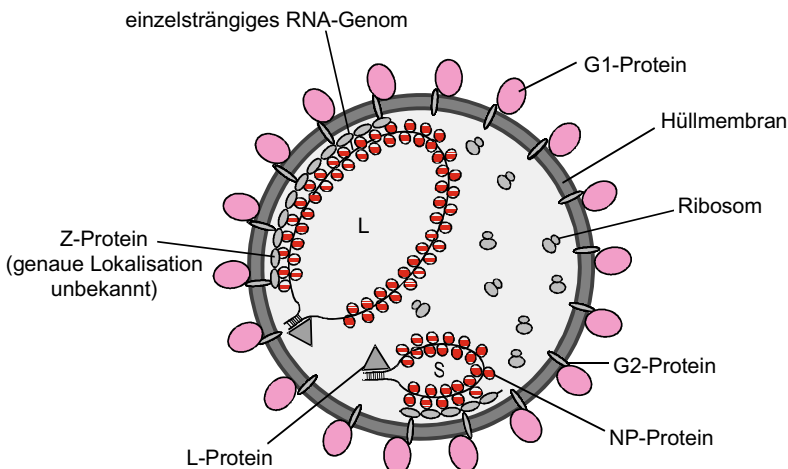
Viruspartikel

Die Partikel der Arenaviren sind *pleomorph*. Überwiegend haben sie eine sphärische Form mit variablen Durchmessern von 50 bis 300 nm (► Abbildung 16.1). Sie bestehen aus zwei Nucleocapsidsegmenten, die von einer Hüllmembran umgeben sind. Beim LCMV sind in die Hüllmembran die Glycoproteine GP1 und GP2 eingelagert, die durch Proteolyse aus einem größeren Vorläuferprotein gebildet werden und als keulenähnliche Vorsprünge acht bis zehn Nanometer aus der Partikeloberfläche hervorragen. Das GP2-Protein ist in der Membran verankert, das GP1-Protein ist durch nichtkovalente Bindung mit der Partikeloberfläche assoziiert. Im Inneren der Membranhülle befinden sich die viralen *RNA-Genomsegmente L und S*, die mit den Nucleoproteinen (NP, 63 kD) komplexiert sind. Man findet in den Partikeln gelegentlich auch mehrere Kopien der L- und S-Segmente. Weitere Komponenten der Virionen sind die L-Proteine (250 kD) – die RNA-abhängigen RNA-Polymerasen –, relativ große Mengen von Z-Proteinen (11 kD) sowie eine Proteinkinase. Letztere kann das NP-

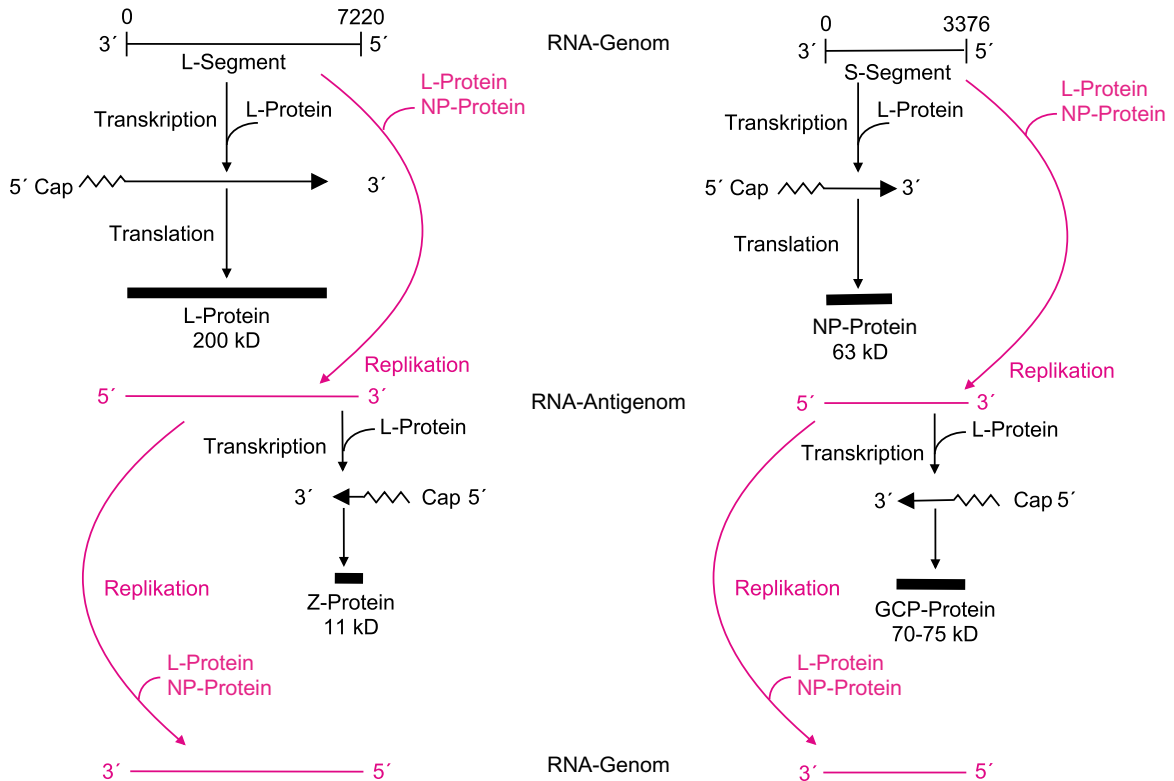
Protein *in vitro* phosphorylieren. Es ist noch nicht bekannt, ob dieses Enzym viruscodiert ist. Bei der Morphogenese der Partikel, die an der Cytoplasmamembran durch Knospung entstehen, werden Ribosomen der Wirtszelle aufgenommen. Man vermutet, dass dies die in den Partikeln nachweisbaren Polyadenylierungs- und Polyuridylierungsenzyme erklärt. Das Vorhandensein der Ribosomen hat keinen Einfluss auf die Infektiosität der Viren.

Genom und Genomaufbau

Das Genom der Arenaviren besteht aus *zwei Segmenten einzelsträngiger RNA*, die beide eine *Ambisense-Orientierung* aufweisen und zusammen über etwa 10 000 bis 12 000 Basen verfügen (► Abbildung 16.2). Beim LCMV ist das *S-Segment* (*S = small*) 3 376 Basen lang, das *L-Segment* (*L = large*) 7 219 Basen. Beide sind über ihre gesamte Länge mit nucleosomenähnlich angeordneten NP-Proteinen komplexiert und bilden so *helikale Nucleocapside*. Außerdem sind einige Einheiten der L-Proteine mit ihnen verbunden. An den 3'- und 5'-Enden der Segmente sind 19 Nucleotide konserviert, die invertiert komplementär sind. Deshalb können die Enden doppelsträngige Bereiche ausbilden, was ihnen eine quasizirkuläre, pfannenstielähnliche Konfiguration verleiht. Neben diesen intramolekularen Basenpaarungen können die Endsequenzen aber auch mit weiteren RNA-Segmenten wechselwirken, sodass sie als Homo- oder Heterodimere vorliegen. Die intermolekulare Hybridbildung bewirkt, dass die L- und S-Segmente in den Partikeln nicht immer in gleichen Mengen vorhanden sind. Die konservierten Endsequenzen enthalten die Promotoren für die Transkription und die Kontrollelemente für die Replikation.



16.1 Darstellung eines Arenaviruspartikels. Das Genom besteht aus zwei Segmenten einzelsträngiger RNA, die als Negativstrang mit den NP- und L-Proteinen zu helikalen Nucleocapsiden komplexieren. Die Z-Proteine interagieren vermutlich mit den NP-Proteinen. Komplementäre Sequenzen an den Enden verleihen ihnen eine quasizirkuläre Form. Die Nucleocapside sind von einer Membranhülle umgeben, in welche die viralen Glycoproteine G1 und G2 eingelagert sind. Als weitere Komponenten findet man im Inneren der Partikel Untereinheiten zellulärer Ribosomen.



16.2 Schematische Darstellung der Transkription, Translation und Genomreplikation beim Virus der lymphocytären Meningitis. Die genomischen L- und S-Segmente werden in gecappte mRNA-Spezies transkribiert. Dieser Schritt wird durch das L-Protein, das als Teil der Viruspartikel in die Zelle gelangt ist, katalysiert. Von den gebildeten mRNAs werden die Proteine L und NP translatiert. Liegen ausreichende Mengen neusynthetisierter NP-Proteine in der Zelle vor, erfolgt die Bildung ungecappter RNA-Stränge in positiver Orientierung (Antigenome). Diese dienen sowohl als Matrizen für die Bildung von RNA-Molekülen in Negativstrangorientierung, die denen der Genomsegmente entsprechen, als auch für die Synthese von gecappten mRNAs für die Proteine Z und GCP (Glycoproteinvorläufer). Beide Segmente besitzen also Ambisense-Orientierung.

Das S-Segment codiert für das Vorläuferprotein GPC (*glycoprotein precursor*) der GP1- und GP2-Proteine und für das NP-Protein (► Abbildung 16.2). Beide Gene überlappen nicht und sind durch eine *intergenische Region* voneinander getrennt, die in der RNA-Sequenz eine stabile Haarnadelstruktur ausbildet. Das NP-Protein wird in der 3'-Hälfte des S-Segments codiert und von einer mRNA translatiert, die komplementär zu diesem Genbereich ist. Dieses Gen liegt also in negativer Orientierung vor. Das GPC-Protein wird in der 5'-Hälfte des Genoms codiert, jedoch in positiver Orientierung. Für die Synthese dieses Polypeptids muss das genomische RNA-Segment in ein Antigenom umgeschrieben werden: Dieses dient darauffolgend als Matrize für die Transkription der GPC-spezifischen mRNA. Beide Leserahmen laufen also gleichsam aufeinander zu. Sie werden durch die intergenische Region voneinander getrennt, die als Terminationssignal für die Transkription dient.

Auch das L-Segment besitzt zwei nicht miteinander überlappende Leserahmen in Ambisense-Orientierung. Das L-Protein wird in der 3'-Hälfte des Segments in negativer Orientierung codiert (► Abbildung 16.2). In der 5'-Region fand man einen Leserahmen in entgegengesetzter Leserichtung, der für ein als Z-Protein bezeichnetes, Zn^{2+} -ionenbindendes Polypeptid codiert. Zwischen beiden Leserahmen befindet sich eine intergenische Region, die cytidinreich und etwa 200 Basen lang ist. Sie bildet definierte Sekundärstrukturen aus, die als Terminationssignale für die mRNA-Synthese dienen.

16.1.3 Virusproteine

Membranproteine Die Glycoproteine des LCMV werden als Vorläuferprotein GPC mit einem Molekulargewicht von etwa 70 bis 75 kD gebildet, die ungespaltenen

GPC-Proteine bilden Oligomerkomplexe. Beim Lassavirus entsteht ein PreGPC Vorläuferprotein von 82 kD. Zelluläre Signalpeptidasen spalten dieses in ein ungewöhnlich langes aminoterminalen Signalpeptid von 58 Aminosäuren und in das Vorläuferprotein GPC (76 kD), welches mittels einer hydrophoben Domäne am carboxyterminalen Ende in der Membran des endoplasmatischen Reticulums verankert wird. Das Enzym SKI-1/S1P (Subtilisin-Kexin Isoenzym 1/Site 1-Protease), eine tryptinähnliche zelluläre Protease, zerschneidet das glycosylierte, wahrscheinlich als Tetramer vorliegende GPC-Protein im Golgi- oder *post*-Golgi-Kompartiment in einen aminoterminalen Anteil GP1 (40–46 kD beim LCMV, 40 kD beim Lassavirus) und einen carboxyterminalen, membranverankerten Teil GP2 (35 kD beim LCMV beziehungsweise 36 kD beim Lassavirus). Beim Lassavirus bleibt das Signalpeptid mit dem GPC-Protein assoziiert. Diese Komplexbildung ist eine Voraussetzung für die Spaltung des GPC-Proteins durch die Protease SKI-1/S1P. Die Wechselwirkung zwischen dem Signalpeptid und dem GP1-Anteil des GPC-Proteins lässt vermuten, dass durch diese Konformationsstabilisierung die Spaltstelle des GPC-Proteins für die Protease zugänglich wird. Im reifen Viruspartikel bilden die GP1- und GP2-Proteine trimere Komplexe. Die GP1-Trimere sind über Disulfidbrücken miteinander verbunden und bleiben nach der Spaltung nichtkovalent mit den GP2-Trimern assoziiert. Diese Komplexe bilden die spikeähnlichen 9,5 nm großen Proteinvorsprünge auf der Virusoberfläche. Die GP1-Proteine sind für die Wechselwirkung mit den zellulären Rezeptorproteinen verantwortlich; gegen sie werden im Infektionsverlauf neutra-

lisierende Antikörper gebildet. Die G2-Proteine haben fusogene Aktivität und sind über ihre carboxyterminalen, cytoplasmatischen Domänen mit den NP-Proteinen der Nucleocapside verbunden. ► Tabelle 16.2 gibt eine Übersicht zu den molekularen Charakteristika und Funktionen der Proteine von LCMV.

Nucleoprotein Die NP-Proteine haben ein Molekulargewicht von etwa 63 kD und sind mit den RNA-Segmenten assoziiert. In Analogie zu den anderen Negativstrang-RNA-Viren glaubt man, dass auch das NP-Protein der Arenaviren das Umschalten vom Transkriptions- zum Replikationsmodus reguliert (► Abschnitte 15.1 bis 15.4, 16.2 und 16.3). In infizierten Zellen und in gereinigten Viruspräparationen sind in reproduzierbaren Mengen Abbauprodukte des NP-Proteins vorhanden. Außerdem findet man spät im Replikationszyklus eine *phosphorylierte Variante* des NP-Proteins. Ob diese Produkte an der Regulation der Transkription und Replikation beteiligt sind, ist nicht bekannt.

RNA-abhängige RNA-Polymerase Das L-Protein (250 kD) ist in geringen Mengen in den Viruspartikeln nachweisbar und mit den Nucleocapsiden assoziiert. Bei unterschiedlichen Stämmen des Lassavirus unterscheiden sich die Aminosäuresequenzen der L-Proteine um bis zu 18 Prozent. Die RNA-abhängige RNA-Polymeraseaktivität konnte der Domäne zwischen den Aminosäuren 1043 bis 1546, der insgesamt 2218 bis 2221 Aminosäuren umfassenden Proteinen, zugeordnet werden. Ob es modifiziert oder prozessiert wird, ist unklar. Für die erfolgreiche Transkription und Replikation der

Tabelle 16.2 Molekulare Eigenschaften und Funktionen der Proteine von Arenaviren (LCMV)

Protein	Molekulargewicht/ Anzahl der Aminosäuren	Modifizierung	Funktion
GPC	70–75 kD/498 AS	glycosyliert	Vorläuferprotein von GP1 und GP2; Interaktion zu Oligomeren
GP1	40–46 kD/262 AS	glycosyliert	aminoterminaler Anteil von GPC; externes Glycoprotein; Induktion neutralisierender Antikörper; Adsorption; bilden Trimere, die durch Disulfidbrücken kovalent verbunden sind
GP2	35 kD/236 AS	glycosyliert	carboxyterminaler Anteil von GPC; integrales Membranprotein; fusogene Aktivität; trimere Komplexe, nicht kovalent mit GP1 assoziiert
NP	63 kD/558 AS	teilweise phosphoryliert	Nucleocapsidkomponente; mit RNA-Genomsegmenten komplexiert
L	250 kD/2211 AS		RNA-abhängige RNA-Polymerase; Nucleocapsidkomponente
Z	11 kD/90 AS	myristoyliert	RING-Finger-Motiv; Zinkfingerprotein; assoziiert mit der Hüllmembran der Viruspartikel; steuert die Partikelbildung und die Virusmorphogenese

Genomsegmente muss das L-Protein mit den NP-Proteinen wechselwirken, andere virale und zelluläre Faktoren sind anscheinend nicht notwendig.

Z-Protein Das relativ hydrophobe Z-Protein (11 kD) verfügt über das Strukturmotiv der RING-Finger-Proteine. Hierbei handelt es sich um ein cysteinreiches *Zinkfingermotiv*, das Zn^{2+} -Ionen bindet. Z-Proteine findet man in großen Mengen in den Viruspartikeln an der Innenseite der Hüllmembran, sie ähneln hierin funktionell den Matrixproteinen anderer Negativstrang-RNA-Viren (Rhabdo-, Paramyxo- und Orthomyxoviren; ▶ Abschnitte 15.1, 15.3 und 16.3). In den infizierten Zellen reichern sich die Z-Proteine an der Innenseite der Cytoplasmamembran an. Verantwortlich für diese Wechselwirkung ist die Modifikation des Z-Proteins mit Myristinsäure. Diese Fettsäure wird mittels der zellulären Transferase NMT (Myristoyl-Coenzym A: Protein N-Myristoyltransferase) kovalent mit dem Glycinrest an Position zwei der Aminosäurekette des Z-Proteins verknüpft, nachdem das aminoterminal Methionin cotranslational durch eine Methionin-Aminopeptidase abgespalten wurde. Darin ähnelt das Z-Protein dem Matrixprotein der Retroviren (▶ Kapitel 18.1). Bei gentechnologischer Expression des Z-Gens von Lassa- oder LCMV-Virus in eukaryotischen Zellen wurde die Bildung von Z-Proteinen enthaltenden Membranvesikeln nachgewiesen, die sich von der Zelloberfläche abschnüren

und in Größe den Viruspartikeln ähneln. Für die Bildung der Knospungsstrukturen und der Vesikel sind prolinreiche Aminosäurefolgen (PPPY beim LCMV, PTAP und PPPY beim Lassavirus) in der carboxyterminalen Region der Z-Proteine verantwortlich, die man als L-Domänen (*late*) bezeichnet – ein Hinweis auf ihre funktionelle Aktivität in der späten Phase des Infektionszyklus bei der Morphogenese. Sie steuern die Anlagerung von zellulären Proteinen, die Teile des vacuolären Proteinsortierungsweges (Vps) sind. Hierzu zählen die Faktoren Tsg101, Vsp4A und Vsp4B, die in der Zelle an der Ausbildung von intrazellulären Membranvesikeln (Vakuolen) notwendig sind. In den infizierten Zellen interagieren die membranassoziierten Z-Proteine mit den NP-Proteinen und sind so für die Anlagerung der Genomsegmente in die neu entstehenden Viruspartikel verantwortlich. Das Z-Protein hat jedoch neben diesen Aufgaben bei der Virusmorphogenese weitere Funktionen. Es hemmt die RNA-Polymeraseaktivität der L-Proteine und beeinflusst somit die virale Transkription und die Replikation. Es ist im Kern der infizierten Zellen nachweisbar, bindet sich über das RING-Finger-Motiv an das zelluläre PML-Protein (*promyelocytic leukemia protein*) und ist für dessen Umverteilung aus dem Zellkern in das Cytoplasma infizierter Zellen verantwortlich. Das PML-Protein ist Teil eines Multiproteinkomplexes, dem PML-Kernkörperchen, und besitzt ein RING-Finger-Motiv. Des Weiteren interagieren die Z-



L-Domänen in viralen Strukturproteinen steuern die Bildung von Vesikeln

Die in der Zelle synthetisierten Proteine haben unterschiedliche Aufgaben. Um diese korrekt erfüllen zu können, müssen die Proteine nach oder während der Translation in bestimmte zelluläre Kompartimente transportiert werden. Dies wird in der Regel über bestimmte Aminosäurefolgen – sogenannte Sortierungssignale – vermittelt, an welche sich andere Proteine und Faktoren anlagern. Ein bekanntes Beispiel sind die Signalpeptide, hydrophobe Aminosäurefolgen am aminoterminalen Ende von Polypeptiden, die ihre Aufgabe als membranverankerte Proteine zu erfüllen haben: Hieran lagern sich cotranslational die *signal-recognition particles* (SRP) an, die ihrerseits mit den SRP-Rezeptoren in der Membran des endoplasmatischen Reticulum wechselwirken. Dadurch wird der Komplex aus mRNA, wachsender Aminosäurekette und Ribosom zur ER-Membran transportiert, die Proteine werden noch während der Translation in der Membran verankert und gelangen im weiteren Verlauf über die Golgi-Vesikel als Membranproteine zur Zelloberfläche. Mittels anderer Sortierungssignale erfolgt der spezifi-

sche Transport von bestimmten Proteinen in den Zellkern, in die Mitochondrien, in die Lysosomen und Vakuolen. Für den gerichteten Transport in Vakuolen benötigen Proteine meist prolinreiche Aminosäuremotive als Sortierungssignal wie PTAP, PSAP, PPxY oder auch YxxL (x entspricht dabei einer beliebigen Aminosäure). Befinden sich derartige Consensussequenzen in viralen Proteinen, dann bewirken sie die Wechselwirkung mit den Komponenten des vacuolären Sortierungsweges (Vsp, *vacuolar sorting pathway*). Derartige Consensussequenzen konnten unter anderem in den Gag-Proteinen des humanen Immundefizienzvirus und des Rous-Sarcom-Virus, dem VP40 des Ebolavirus, dem Matrixprotein M des vesiculären Stomatitis-Virus sowie in den Z-Proteinen von Lassavirus und LCMV nachgewiesen werden. Sie bewirken die Eingliederung dieser Proteine in Vakuolen und vesikuläre Membranstrukturen. Damit haben sie eine essenzielle Funktion bei der Bildung der Vesikel, welche bei den membranumhüllten Viren die Vorläufer der infektiösen Viruspartikel darstellen.

Proteine mit dem Translationsinitiationsfaktor 4E. Dies lässt vermuten, dass die Translation gecappter mRNAs in den Zellen gehemmt wird. Ob diese Wechselwirkungen des Z-Proteins mit zellulären Polypeptiden den Infektionsverlauf oder die Etablierung der Viruspersistenz beeinflussen, ist ungeklärt. Weiterhin fand sich eine Wechselwirkung des Z-Proteins mit den P-Proteinen der großen Ribosomenuntereinheit. Ob dies die Verpackung der Ribosomen in die Viruspartikel bewirkt, ist nicht geklärt.

16.1.4 Replikation

Wie die Arenavirusreplikation im Detail abläuft, ist nicht bekannt. In vielen Fällen leitet man die Vorgänge von den Abläufen bei Bunya- oder Influenzaviren ab. Bei der Adsorption verwenden die Virustypen unterschiedliche zelluläre Oberflächenproteine: Als zellulären Rezeptor für die Altweltarenaviren und die Vertreter der Linie C der Neuweltarenaviren hat man das α -Dystroglycan identifiziert. Hieran binden sich die Viren über die G1-Proteine, wobei die Aminosäurereste 259 und 260 (bezogen auf die Sequenz des LCMV) für die hochaffine Wechselwirkung mit α -Dystroglycan wichtig sind. Diese Positionen befinden sich in Nachbarschaft zur Spaltstelle im GPC-Vorläuferprotein. Verfügen die G1-Proteine über Phenylalanin oder Tyrosin beziehungsweise Leucin oder Isoleucin an den Positionen 259 und 260, dann nutzen die Virustypen α -Dystroglycan als Rezeptor. α -Dystroglycan ist ein peripheres Membranprotein, das mit den Komponenten der extrazellulären Matrix interagiert und nichtkovalent mit dem membranverankerten β -Dystroglycan verbunden ist. Die Dystroglycankomplexe sind in unterschiedlich großen Mengen auf den Zellen der meisten Organe im Körper vorhanden. Die anderen Vertreter der Neuweltviren der Linie B, wie die Junin-, Machupo-, Guanarito- und Sabiaviren nutzen den Transferin-Rezeptor 1 (TfR1) zur Adsorption. Für die Neuweltarenaviren der Linie A konnte noch kein Zellrezeptor identifiziert werden.

Vermutlich erfolgt nach der Adsorption die Aufnahme der Partikel über rezeptorvermittelte Endocytose und Aktivierung der Fusionsaktivität, wie die Spaltung der GPC-Proteine in die Anteile G1 und G2 in Analogie zum HA-Protein der Influenzaviren schließen lässt (► Abschnitt 16.3). Alle Prozesse nach der Freisetzung der Nucleocapside laufen im *Cytoplasma* ab. Dabei binden sich die Nucleocapside an die Kernmembran. Möglicherweise sind Kernfaktoren an der Replikation beteiligt, denn die Virusvermehrung ist in entkernten Zellen wenig effizient.

In den ersten Schritten des Infektionszyklus werden die NP- und L-Gene transkribiert, die in negativer Orientierung auf den Segmenten S beziehungsweise L lokalisiert sind (► Abbildung 16.2). Am 5'-Ende der mRNA-Moleküle befindet sich eine Cap-Gruppe, der ein bis sieben nicht viruscodierte Nucleotide folgen. Das lässt vermuten, dass die Arenaviren ähnlich wie die Influenzaviren den Mechanismus des Cap-Stehlers für die Transkriptionsinitiation verwenden und sie die 5'-Cap-Strukturen zellulärer mRNAs als Primer nutzen (► Abschnitt 16.3). Die mRNA-Synthese endet an den haarnadelähnlichen Sekundärstrukturen der intergenischen Bereiche. Die Transkripte werden an freien Ribosomen in die NP- beziehungsweise L-Proteine translatiert.

Das Umschalten vom Transkriptions- in den Replikationsmodus mit der Synthese durchgehender RNA-Produkte ist vermutlich von der Menge an neu synthetisierten NP-Proteinen abhängig (► Abbildung 16.2) Auch dieser Vorgang benötigt einen *Primer*. Wie dieser beschaffen ist, konnte bisher nicht völlig geklärt werden. An den 5'-Enden der entstehenden Antigenome der Tacaribeviren findet man einen Guanosinrest, der weder in Basenpaarung vorliegt noch von der Virus-RNA codiert ist. Außerdem sind kurze Abschnitte der Genomenden heterogen. Ein Modell für die Initiation der Genomreplikation besagt, dass das L-Protein Oligonucleotide als Primer für die Polymerisationsreaktion verwendet und sie an die 3'-Enden der RNA-Segmente anlagert. Die entstehenden antigenomischen RNA-Stränge aggregieren danach mit NP-Proteinen.

Die mRNAs für die GPC- und Z-Proteine werden von den antigenomischen RNA-Strängen der S- beziehungsweise L-Segmente abgelesen. Sie enden an den Terminationssignalen der intragenischen Region. Die Synthese des GPC-Proteins erfolgt an der Membran des endoplasmatischen Reticulums. Es wird in das Lumen eingeschleust und über eine hydrophobe Domäne im carboxyterminalen Bereich in der Membran verankert. Die Proteine interagieren zu Oligomeren, werden glycosyliert und mittels der Protease SKI-1/S1P in die GP1- und GP2-Anteile gespalten. Wie beim Lassavirus beschrieben wurde, ist die Prozessierung des GPC-Proteins davon abhängig, dass das zuvor durch die Signalase abgespaltene Signalpeptid mit dem GPC komplexiert bleibt. Die GP1- und GP2-Komplexe werden über die Golgi-Vesikel zur Zelloberfläche transportiert und bilden in der Cytoplasmamembran an Glycoproteinen reiche Regionen aus. Parallel dazu dienen die Antigenome auch als Matrizen für die Bildung durchgehender RNA-Genomstränge, die mit NP-Proteinen zu Nucleocapsiden assoziieren.

Die myristylierten Z-Proteine lagern sich an die Cytoplasmamembran an. Sie binden sich an die NP-

Proteine der Nucleocapsidsegmente, welche auch über das NP-Protein mit den cytoplasmatischen Bereichen der GP2-Proteine interagieren. So entstehen die initialen Budding-Strukturen. Die Nucleocapside werden von der mit Z- und GP1/GP2-Proteinen angereicherten Membran umschlossen – dabei gelangen auch Ribosomen in die Virionen – und von der Zelle abgegeben. Es scheint kein Mechanismus zu existieren, der gewährleistet, dass jeder Partikel ein S- und ein L-Segment erhält. Beim LCMV wurde gezeigt, dass bei gleichzeitiger Infektion von Zellen mit verschiedenen Virusstämmen Reassortanten entstehen können. Bei den Neuweltarenaviren gibt es Hinweise, dass bei Coinfektionen genetische Rekombinationsereignisse zur Bildung neuer Virusvarianten (► Exkurs Das Whitewater-Arroyo-Virus) beitragen können.

Persistierende LCMV-Infektion in Mäusen Die LCMV-Infektion ist nicht cytolytisch und hat einige Besonderheiten. Nachdem das Virus sich anfangs stark vermehrt, etabliert es in Vero-Zellen (Nierenzellkulturen Grüner Meerkatzen) oder auch in Neuronen eine persistierende Infektion. Das Virus produziert in dieser Phase nur noch wenige Nachkommen, die Synthese von GPC-Proteinen nimmt ab, und im Cytoplasma sind steigende Konzentrationen von L-Proteinen nachweisbar. Vermutlich weist diese Anreicherung der RNA-abhängigen RNA-Polymerase darauf hin, dass sich inaktive Enzymkomplexe gebildet haben. Die Transkription und Replikation der Genome wird dadurch vermindert. Die Zellen produzieren kontinuierlich geringe Mengen infektiöser Partikel, sodass es auch genug Genomsegmente gibt, um bei der Zellteilung die Weitergabe der Virusinformation auf die Tochterzellen zu gewährleisten. Die persistierend infizierten Zellen können mit dem in der Kultur freigesetzten Virus nicht überinfiziert werden; es liegt also ein Interferenzzustand vor. Das persistierende Virus verhindert über einen noch unbekanntem Mechanismus die Infektion der Zelle mit weiteren Viren.

16.1.5 Human- und tierpathogene Arenaviren

Das Virus der lymphocytären Choriomeningitis

Epidemiologie und Übertragung

1933/34 isolierten Charles Armstrong und Ralph Dougall Lillie erstmals das Virus der lymphocytären Choriomeningitis (LCMV) aus einem Patienten, der an einer Infektion mit dem St.-Louis-Encephalitis-Virus,

einem Flavivirus (► Abschnitt 14.5), erkrankt war. Sie übertrugen das LCMV auf Mäuse und Affen. Zwischen 1935 und 1938 führte Erich Traub in Princeton seine bahnbrechenden Untersuchungen über die LCMV-Infektion von Mäusen durch. Die lymphocytäre Choriomeningitis war die erste Infektionskrankheit, bei der man ein chronisches Virusträgerstadium beobachtete. Sie hat in der akuten Phase fast ausschließlich immunpathologische Ursachen. Michael B. A. Oldstone entwickelte durch seine Untersuchungen am LCMV seine Theorie über Immunkomplexkrankheiten. Rolf Zinkernagel konnte hier erstmals die MHC-Restriktion von cytotoxischen CD8⁺-Lymphocyten zeigen. Ihm wurde für diese Untersuchungen 1996 der Nobelpreis für Medizin verliehen.

Das LCMV infiziert weltweit neben der Hausmaus verschiedene wildlebende Mausarten. Untersuchungen in den USA zeigten, dass – mit regionalen Unterschieden – zwischen drei und 20 Prozent der Wildmäuse eine persistierende LCMV-Infektion haben. Trächtige Mäuse übertragen das Virus vertikal auf die Föten, wobei *in utero* infizierte Tiere keine Immunantwort entwickeln, die in der Lage wäre, die Erreger zu eliminieren. Daher etablieren sich chronische, asymptomatische Infektionen, die mit einer hohen Viruslast im Blut verbunden sind. Die Erreger werden lebenslang in Urin, Kot, Speichel, Milch und Samenflüssigkeit ausgeschieden. Virus-haltige Aerosole und Staub stellen die Hauptquellen der zoonotischen Übertragung auf den Menschen dar. Diese erfolgt vor allem in der kalten Jahreszeit, wenn Mäuse den Schutz der Häuser suchen. Daneben sind viele Laborinfektionen von Tierpflegern bekannt, die mit infizierten Mäusen Kontakt hatten. Experimentell lässt sich das Virus auch auf verschiedene andere Nagetiere wie Hamster und Meerschweinchen, und ebenfalls auf Affen übertragen. Von akzidentell durch Wildmäuse infizierten Hamstern und Meerschweinchen kann die Übertragung auf den Menschen erfolgen („Hamsterkrankheit“). Hierbei fungierten immer wieder einzelne Tierhandlungen als „Verteiler“. Übertragungen von infizierten Menschen auf andere sind – mit Ausnahme der vertikalen Übertragung von LCMV-infizierten Schwangeren auf den Fötus sowie einiger Übertragungen durch Organtransplantationen (► Exkurs LCMV) – nicht bekannt.

Eine Infektion von Menschen mit dem LCMV ist selten und meist asymptomatisch. Die Seroprävalenz schwankt in den USA zwischen 0,3 Prozent bei Jüngeren und 5,4 Prozent bei Personen über 30 Jahre. Die Übertragungshäufigkeit ist in ländlichen oder verwahten Wohnquartieren, in denen sich Mäuse aufgrund der Ansammlung von Abfällen stark vermehren, ungleich größer als in städtischen Wohngebieten.



LCMV – Ein Risiko bei Organtransplantationen

Im Dezember 2003 und April 2005 fanden sich in zwei unabhängigen Patientengruppen, die von jeweils einem Spender Organe transplantiert bekommen hatten, Symptome einer schwer verlaufenden LCMV-Infektion. Sieben der acht Infizierten verstarben. Ursächlich dafür waren die Organe zweier Spender, die anscheinend mit LCMV infiziert waren, ohne dabei Symptome zu entwickeln. Untersuchungen ergaben, dass sich der Spender im Jahr 2005 zusammen mit weiteren Familienmitgliedern bei einem kurz zuvor gekauften Goldhamster angesteckt hatte. Bei dem anderen Spender konnte die Quelle für die LCMV-Infektion nicht festgestellt werden. In beiden Spendern konnte man keine virale RNA im Blut mehr nachweisen. Es muß daher vermutet werden, dass die viralen Genomsegmente in den Zellen unterschiedlicher Gewebe latent erhalten geblieben sind. Diese Berichte haben zumindest in den USA die LCMV-Infektion als potenzielles Problem bei Transplantatempfängern in ein neues Licht gerückt. Wegen der extremen Seltenheit erscheint jedoch, ähnlich wie bei der Übertragung des Tollwutvirus durch transplantierte Organe (► Kapitel 15.1), eine generelle Testung der Spender als technisch und logistisch zu schwierig und zu kostspielig,

zumal sie in beiden Beispielen wohl auch nicht zum gewünschten Ziel geführt hätte.

Ein ähnliches Restrisiko existiert bei allen Virusinfektionen, die mit einer vorübergehenden Virämie einhergehen. Zwischenzeitlich sind bis April 2008 weltweit zwei weitere Cluster aufgetreten, in denen LCMV durch Spenderorgane übertragen wurden. Jeder der insgesamt fünf Organempfänger verstarb. Auch wurden 2008 drei Todesfälle bei Transplantatempfängern dokumentiert, die Organe eines Spenders bekommen hatten und vier bis sechs Wochen nach der Transplantation fieberhafte Erkrankungen entwickelten, an denen sie verstarben. In noch zur Verfügung stehenden Organproben des Spenders ließen sich LCMV-ähnliche RNA-Sequenzen eines bislang noch unbekanntes Arenavirus nachweisen. Die LCMV-Infektion der immunsupprimierten Organempfänger verlief wohl auch deswegen fulminant, weil LCMV bekanntlich effektiv vom zellulären Immunsystem kontrolliert wird. Wichtig ist in solchen Fällen auch die schnelle Diagnosestellung: Tatsächlich erhielt der einzige überlebende Patient Ribavirin als antivirale Therapie und eine Reduktion der medikamentösen Immunsuppression.

Klinik

Die LCMV-Infektion verläuft beim Menschen häufig asymptomatisch oder als leichte, grippeähnliche Erkrankung. Die Inkubationszeit beträgt durchschnittlich ein bis zwei Wochen. Die eigentliche lymphocytäre Choriomeningitis äußert sich durch zum Teil sehr starke Kopfschmerzen, Fieber, Schwächezustände und Brechreiz. Hauptsymptom ist die Nackensteifigkeit, als typisches Anzeichen für eine *Meningitis*. Die Erkrankung dauert fünf bis sieben Tage an, die Symptome können jedoch später in zwei oder drei Schüben wieder auftreten. Enzephalitiden, Lähmungen und andere neurologische Krankheitszeichen findet man nur sehr selten. Werden schwangere Frauen mit LCMV infiziert, so kann das Virus auf den Embryo übertragen werden. Die Virusinfektion kann in der Frühschwangerschaft Spontanaborte zur Folge haben, vor allem während des ersten und zweiten Schwangerschaftstrimesters können sie das ungeborene Kind schädigen. Hydrozephalus, Mikro- und Makroencephalie, Chorioretinitis und die Form des nicht immunologisch verursachten *Hydrops fetalis* wurden als mögliche Folgen der Infektion im Fetus beschrieben.

Pathogenese

Das Virus wird durch kontaminierten Staub über Aerosole auf die Schleimhaut des Mund- und Rachenbereichs übertragen und über die Lympheflüssigkeit oder den Blutstrom im Organismus verteilt. Es infiziert über Bindung an α -Dystroglycan die Zellen des reticuloendothelialen Systems, aber auch die Schwannschen Zellen im peripheren Nervensystem. In letzterem findet man eine nichtlytische persistierende Infektion. In *in vitro* Modellen konnte gezeigt werden, dass die infizierten Schwannschen Zellen ihre Fähigkeit zur Ausbildung von kompakten Myelinscheiden verlieren. Möglicherweise sind damit die neurologischen Phänomene verbunden, die man bei Infektionen mit LCMV, aber auch mit anderen Arenaviren findet. Daneben ist die *Leukopenie*, das heißt die Abnahme von weißen Blutzellen, ein ausgeprägtes Merkmal bei allen LCMV-Infektionen. Bei den sehr seltenen menschlichen Todesfällen stellte man massive Infiltrationen von mononucleären Zellen im Gehirn vor allem im *Plexus chorioideus*, aber auch in den Meningen, im Ependym und im Gefäßendothel fest. Bei den wenigen systemischen Infektionen fand man ähnliches auch in der Leber, der Lunge und dem Lymphsystem.

Infektion von Mäusen Erfolgt die Infektion bei embryonalen oder neugeborenen Mäusen, so findet man große Virusmengen in allen Organen, auch im Gehirn. Später treten geringe Mengen von Antikörpern gegen die NP-, GP1- und GP2-Proteine auf. Die Infektion ist meist asymptomatisch. Die Mäuse sind anschließend persistierend infizierte Virusträger und scheiden große Mengen LCMV aus. Die Etablierung der Persistenz selbst beruht wahrscheinlich auf einer peripheren Toleranz der T-Zellen, die durch den Zeitpunkt der Infektion während des Embryonalstadiums und die hohen Virusmengen während der Infektion induziert wird. Mehrere Monate später tritt eine durch Immunkomplexe verursachte Glomerulonephritis, eine Nierenzündung, auf. Man findet Immunkomplexe auch in Arterienwänden und im Plexus chorioideus des Gehirns. Sie bestehen aus Virusproteinen, der Komplementkomponente C1q sowie Antikörpern und können sich über den Fc-Teil der Immunglobuline an die zellulären Fc-Rezeptoren anlagern.

Werden dagegen erwachsene Mäuse mit LCMV infiziert, entsteht – ähnlich wie beim Menschen – eine akute lymphocytäre Choriomeningitis mit sehr dichten Infiltrationen von T- und B-Lymphocyten, NK- und Plasmazellen sowie Monocyten in die infizierten Gewebe. Ähnliches findet man in Nieren, Leber, Speicheldrüsen, Pankreas, Lunge und dem Lymphsystem. In den Lymphknoten treten Nekrosen und Blutungen auf. Weiterhin stellt man eine seröse Pleuritis und Peritonitis, eine erhöhte Atemfrequenz und gesteigerte Gefäßdurchlässigkeit fest. Diese Symptome ähneln denen des hämorrhagischen Fiebers (► Abschnitt 16.1.5). In der frühen Phase findet man erhöhte Konzentrationen von TNF- α , Interferon- α und - β sowie anderen Cytokinen. Diese induzieren vor allem die Expression von *MHC-Klasse-I-Komplexen* auf der Oberfläche infizierter und

nichtinfizierter Zellen, was diese in Verbindung mit viralen Peptidpitopen zu bevorzugten Zielen für cytotoxische T-Lymphocyten macht. Die Cytokine leiten auch die Proliferation von natürlichen Killerzellen ein, die aber für die Eliminierung des Virus nicht entscheidend sind. Einzelne Virusstämme variieren sehr stark in ihrer Fähigkeit, ausreichende Mengen von Interferon zu induzieren und damit auch in ihrer Virulenz. Bei einer effektiven Induktion der Interferonbildung reduziert sich die Virusmenge in den frühen Infektionsphasen und bewirkt gleichzeitig die Einleitung der zellulären Immunantwort. Die CD8⁺-T-Lymphocyten spielen die wichtigste Rolle bei der Viruseliminierung und schützen vor Reinfektionen. Die CD4⁺-T-Lymphocyten sind in geringem Ausmaß auch cytotoxisch, tragen jedoch vor allem in der späten Infektionsphase durch die Sekretion von Cytokinen wie Interleukin-2 und Interferon- γ zur Aktivierung der CD8⁺-T-Lymphocyten und zur Antikörperbildung bei. Die virusspezifischen B- und T-Zellen expandieren, die LCMV-Produktion wird kontrolliert und die Erreger aus dem Organismus eliminiert.

Immunreaktion und Diagnose

Im Verlauf der akuten LCMV-Infektion treten IgM- und IgG-Antikörper gegen das NP- und die GP1- und GP2-Proteine auf, außerdem CD8⁺- und CD4⁺-T-Lymphocyten und aktivierte NK-Zellen. Epitope, die von cytotoxischen T-Zellen erkannt werden, konnte man im Maussystem in allen Proteinen identifizieren. Die serologische Diagnose erfolgt über den Antikörpernachweis im ELISA-Test (IgM für frische Infektion, IgG bei Durchseuchung). Viren lassen sich durch die Polymerasekettenreaktion aus geeignetem Material nachweisen.



Die lymphocytäre Choriomeningitis der Maus wird durch cytotoxische T-Zellen verursacht

Die lymphocytäre Choriomeningitis in unreifen Tieren wird durch *immunpathogene Mechanismen*, genauer gesagt durch CD8⁺-T-Lymphocyten ausgelöst. Dies ließ sich durch folgende Experimente beweisen: Röntgenbestrahlung oder die Gabe von immunsuppressiven Agenzien verhindern die Entstehung der Erkrankung bei erwachsenen Mäusen, die dann ähnlich wie neugeborene Tiere eine symptomfreie,

persistierende Infektion etablieren. Ähnliches gilt für Mäuse, denen nach der Geburt der Thymus entfernt wurde und die deswegen keine cytotoxischen T-Zellen bilden können. Werden in diese Mäuse T-Zellen erkrankter Tiere injiziert, so entsteht eine typische lymphocytäre Choriomeningitis.

Therapie und Prophylaxe

Einen Impfstoff gegen die LCMV-Infektion gibt es nicht. In besonders schweren Fällen kann eine Ribavirinbehandlung die Symptome mildern.

Die Erreger des hämorrhagischen Fiebers

Epidemiologie und Übertragung

Die Lassa-, Junin-, Machupo- und Guanariviren verursachen bei bestimmten Nagetieren (► Tabelle 16.1) persistierende Infektionen und werden danach lebenslang mit dem Urin, Kot und Speichel ausgeschieden. Ähnlich wie bei den Hantaviren (► Abschnitt 16.2) sind die von diesen Viren hervorgerufenen Erkrankungen an die geographischen Regionen gebunden, in denen die entsprechenden Nagetierspezies unter natürlichen Bedingungen vorkommen: Lassafieber in Westafrika, das hämorrhagische Fieber durch Junin-, Machupo-, Sabia- beziehungsweise Guanariviren in Argentinien, Bolivien, Brasilien und Venezuela. Das Junin-Virus war bis zur ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts für die menschliche Gesundheit ohne Bedeutung, da die Überträger (*Calomys musculus*, *C. laucha*) nicht in Kontakt mit menschlichen Siedlungen waren. Durch die Intensivierung der Landwirtschaft in den Pampa-Regionen Argentiniens konnten sich die als Überträger der Infektion fungierenden Mausarten im Vergleich zu anderen Nagetieren massiv ausbreiten und somit Zugang zum Menschen erlangen. Die Lassaviren kann man entsprechend ihrer unterschiedlichen geographischen Verbreitung in vier Stämme (Nigeria, Guinea, Liberia, Sierra Leone) gliedern. Etwa 20 Prozent der Infektionen sind

mit Erkrankungen verbunden; bei diesen klinischen Verläufen ist von einer Mortalitätsrate von zehn bis 30 Prozent auszugehen. Die Zahl der jährlich in Westafrika neu auftretenden Lassavirusinfektionen schätzt man auf 100 000 bis 500 000, verbunden mit mehreren Tausend Todesfällen. Reisende in solche Länder sind bei entsprechender Exposition erheblich gefährdet. Bereits mehrere, meist tödlich verlaufende Lassavirusinfektionen wurden in jüngster Zeit durch Afrikareisende nach Europa, vereinzelt auch nach Deutschland, importiert.

Die Viren werden durch virushaltigen Staub (Aerosole) oder direkten Kontakt mit den Nagetieren übertragen. In epidemiologischen Studien zur Übertragung des Lassafiebers in Westafrika konnte gezeigt werden, dass die Viren vor allem solche Personen infizieren, die es gewohnt sind, Mäuse und andere kleine Nagetiere zu jagen und als Lebensmittel zu verwenden. Die im Blut der Tiere vorhandenen Erreger gelangen über kleinste Verletzungen in den Blutstrom und lösen die Infektion aus. Die Übertragung der Viren des südamerikanischen hämorrhagischen Fiebers erfolgt meist durch virushaltige Aerosole, die bei der Getreideernte entstehen. Infizierte Nagetiere werden in den Erntemaschinen getötet, ihr Blut wird zusammen mit dem entstehenden Staub verwirbelt und gelangt auf die Schleimhäute der Erntearbeiter. Infektionen findet man daher vor allem während der Erntezeit bei Männern, welche sich in der Nähe dieser Maschinen befinden. Die Viren können in seltenen Fällen auch durch direkte Kontakte von infizierten Patienten auf andere Menschen übertragen werden. So gibt es beim Lassa- und Machupofieber nosokomiale Infektionen, die vermutlich in Krankenhäusern durch die Verwendung ungenügend sterilisierter Instrumente zustande kommen. Für Infektionen mit Junin-, Sabia- und Guanariviren sind derartige Mensch zu Mensch-Übertragungen nicht bekannt.



Das Whitewater-Aroyo-Virus

Das Whitewater-Aroyo-Virus verursacht beim Menschen schwere Erkrankungen der Atemwege, die mit hämorrhagischen Symptomen und Leberversagen einhergehen. Es ist bisher das einzig bekannte Virus, das zu der Serogruppe der Tacaribeviren gehört und in Nordamerika bei Infizierten hämorrhagisches Fieber verursacht. In den Jahren 1999 und 2000 verstarben in Californien drei Menschen, aus denen man das Whitewater-Aroyo-Virus isolieren konnte.

Als natürliche Wirte konnte man Mäuse der Gattung *Neotoma* identifizieren. Durch Analyse der Nucleotidsequenzen im S-Genomsegment ergaben sich Hinweise, die vermuten lassen, dass dieses für Menschen hochpathogene Virus durch genetische Rekombination in Nagetieren entstanden sein könnte, die gleichzeitig mit unterschiedlichen Arenavirustypen infiziert waren. Dies verdeutlicht das hohe pathogene Potenzial dieser Virusgruppe.

Klinik

Das Lassafieber hat eine Inkubationszeit von bis zu drei Wochen. Es äußert sich zuerst durch plötzlich einsetzendes hohes Fieber, Kopf-, Rücken- Hals- und Gelenkschmerzen, Pharyngitis, Erbrechen und Durchfall. Viele Patienten zeigen Blutungen der Schleimhäute, Proteinausscheidung im Urin, Schwellungen im Gesicht und Nacken sowie Anzeichen einer Hepatitis und/oder Enzephalitis. Als Spätfolgen der Infektion können Pericarditis, Gehörverlust, Entzündungen der Augennetzhaut sowie der Hoden auftreten. Das Lassafieber nimmt eine Sonderstellung unter den viralen hämorrhagischen Fiebern (VHF) ein, indem beim Schock-Syndrom die generalisierte endotheliale Dysfunktion und die Thrombocytopenie deutlich im Vordergrund stehen. Todesursache ist meist Herz-Kreislaufversagen infolge der inneren Blutungen. Beim argentinischen und bolivianischen hämorrhagischen Fieber werden keine Symptome im Respirationstrakt gefunden, dafür stehen die hämorrhagischen Zeichen deutlich stärker im Vordergrund. Unbehandelt ist die mit den Erkrankungen verbundene Todesrate hoch: Etwa 20 bis 30 Prozent der Infizierten sterben, auch trotz (intensiv-)medizinischer Behandlung. Bei Schwangeren ist die Komplikationsrate noch deutlich höher, mit Totgeburten ist fast immer zu rechnen.

Pathogenese

Nach der Aufnahme über Inhalation oder Hautwunden werden die Viren durch den Blutstrom verteilt. Sie infizieren vor allem die Zellen des reticuloendothelialen Systems in vielen Organen, zum Beispiel der Leber, Lunge und der Placenta. Die direkte Schädigung von Gewebe ist relativ gering. Die Pathogenese der Erkrankung ist weitgehend unklar. Beim Lassafieber findet man fokale Nekrosen vor allem in Leber, Milz und Nebennieren. Bei schweren Verläufen der Erkrankung tritt das *capillary leaky syndrome* auf, das in 30 bis 40 Prozent der Fälle zum Schock mit Herz-Kreislaufversagen führt. Beim argentinischen und bolivianischen Fieber treten verstärkt Blutungen der Haut- und Schleimhautbereiche im Magen-Darm-Trakt auf; eine deutlich erhöhte Gefäßdurchlässigkeit ist zu beobachten. Die typischen Symptome der Hämorrhagie sind bei diesen Infektionen somit deutlicher als beim Lassafieber, das klinisch meist relativ uncharakteristisch ist.

Immunreaktion und Diagnose

Beim Lassafieber findet man zu Beginn der Infektion eine geringe IgM- und bereits einsetzende IgG-Antwort.

Neutralisierende Antikörper können häufig nur in geringen Titern spät nach der Erkrankung nachgewiesen werden. Die Eliminierung des Virus erfolgt daher nicht durch Antikörper, sondern vermutlich – ähnlich wie bei der LCMV-Infektion in der Maus gezeigt – über die zelluläre Immunantwort durch cytotoxische T-Zellen. Auch persistiert das Virus oft lange Zeit nach der Erkrankung und ist im Serum oder im Urin nachweisbar. Im Gegensatz hierzu sind beim südamerikanischen hämorrhagischen Fieber Antikörper gegen die NP- und G-Proteine erst zwei bis vier Wochen nach der Infektion im Serum vorhanden und im Immunfluoreszenz- oder ELISA-Test nachweisbar. Da das NP-Protein hochkonservierte Sequenzabschnitte enthält, sind NP-spezifische Antikörper häufig kreuzreaktiv. Der positive Nachweis von IgM-Antikörpern beziehungsweise ein vierfacher IgG-Titeranstieg in Folgeserumproben gelten als Anzeichen einer akuten Infektion. Die gegen die Oberflächenproteine gerichteten Immunglobuline sind neutralisierend und reagieren wesentlich spezifischer. Da sie jedoch erst deutlich später im Infektionsverlauf gebildet werden, kann ihr Nachweis für die Diagnose der akuten Infektionen meist nicht herangezogen werden. G-Protein spezifische Antikörper, die im Neutralisationstest nachgewiesen werden, dienen zur Bestimmung des Virustyps und des Immunstatus. Für die klinische Diagnostik der akuten Infektion ist die RT-PCR in dazu ermächtigten Laboratorien unerlässlich. Infolge der möglichen nosokomialen Weitergabe der Lassaviren muss die Diagnose so schnell wie möglich erfolgen.

Therapie und Prophylaxe

Gegen die Lassaviren wurde ein Impfstoff entwickelt, der auf rekombinanten, G-Proteine exprimierenden Vacciniaviren basiert. In Affen ließen sich hierdurch die schweren Erkrankungen und Todesfälle verhindern. Antikörper werden auch hier nicht gebildet, sodass der Schutz wohl auf der zellulären Immunantwort beruht. Ebenfalls im Tierversuch erwies sich ein attenuiertes Juninvirus als erfolgreich. Dieser Impfstoff (Candid 1) wurde in Argentinien in einer Doppelblindstudie an 6500 in der Landwirtschaft tätigen Männern erprobt und zeigte eine gute Schutzwirkung. In Endemieregionen des argentinischen hämorrhagischen Fiebers sind seitdem mehrere hunderttausend Menschen mit dieser Lebendvaccine geimpft worden; dies führte zu einer deutlichen Reduktion der Erkrankungen. Die Behandlung der Patienten – sowohl der an Lassafieber wie der an südamerikanischen hämorrhagischen Fieber Erkrankten – mit hohen Dosen von intravenös verabreichtem Ribavirin führt zu deutlich abgeschwächten Erkrankungsverläufen. Orales Ribavirin wird auch pro-

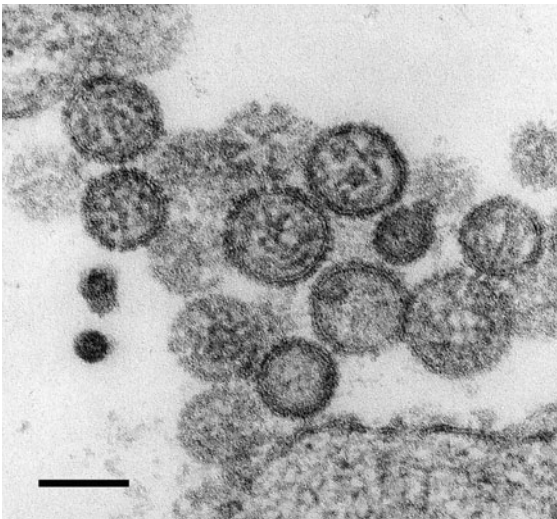
phylaktisch eingesetzt. Zudem war die immuntherapeutische Verabreichung von Seren, die von Überlebenden gewonnen wurden und neutralisierende Antikörper gegen die Viren enthielten (Rekonvaleszenten-Serum) in der Lage, die Mortalitätsrate deutlich zu verringern. Angesichts der AIDS-Problematik in Afrika ist diese Vorgehensweise aber durchaus sehr umstritten. Ansonsten zielt die Behandlung auf die Verhinderung des Herz-Kreislaufschocks, wenn möglich unter intensivmedizinischen Bedingungen. Je nach Überträger ist die Kontrolle der Nagetierpopulationen durch Fallen, Gift, Katzen etc. beziehungsweise eine entsprechende Hygiene innerhalb der menschlichen Behausungen in städtischen und ländlichen Gebieten notwendig und sinnvoll.

16.1.6 Weiterführende Literatur

- Barton, L. L.; Mets, M. B. *Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: decade of rediscovery*. In: *Clin. Infect. Dis.* 33 (2001) S. 370–374.
- Battegay, M.; Meskopleidis, D.; Rahentulla, A.; Hengartner, H.; Mak, T. W.; Zinkernagel, R. *Enhanced establishment of a virus carrier state in adult CD4+ T-cell deficient mice*. In: *J. Virol.* 68 (1994) S. 4700–4704.
- Borden, K. L. B.; Campbelldwyer, E. J.; Carlile, G. W.; Djavani, M.; Salvato, M. S. *Two RING finger proteins, the oncoprotein PML and arenavirus Z protein, colocalize with the nuclear fraction of ribosomal P proteins*. In: *J. Virol.* 72 (1998) S. 3819–3826.
- Bowen, M. D.; Rollin, P. E.; Ksiazek, T. G.; Hustad, H. L.; Bausch, D. G.; Demby, A. H.; Bajani, M. D.; Peters, C. J.; Nichol, S. T. *Genetic diversity among Lassa virus strains*. In: *J. Virol.* 74 (2000) 6992–7004.
- Butz, E. A.; Southern, P. J. *Lymphocytic choriomeningitis virus-induced immune dysfunction: Induction of and recovery from T-cell anergy in adult infected mice*. In: *J. Virol.* 68 (1994) S. 8477–8480.
- Cao, W.; Henry, M. D.; Borrow, P.; Yamada, H.; Elder, J. H.; Ravkov, E. V.; Nichol, S. T.; Compans, R. W.; Campbell, K. P.; Oldstone, M. B. A. *Identification of α -dystroglycan as a receptor for lymphocytic choriomeningitis virus and lassa fever virus*. In: *Science* 282 (1998) S. 2079–2081.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Lymphocytic Choriomeningitis Virus Transmitted Through Solid Organ Transplantation – Massachusetts, 2008*. In: *MMWR* 57 (2008) 799–801.
- Charrel, R. N.; de Lamballerie, X. *Arenaviruses other than Lassa virus*. In: *Antiviral Res.* 57 (2003) S. 89–100.
- Cornu, T. I.; Feldmann, H.; de la Torre, J. C. *Cells expressing the RING finger Z protein are resistant to arenavirus infection*. In: *J. Virol.* 78 (2004) S. 2979–2983.
- Eichler, R.; Lenz, O.; Strecker, T.; Eickmann, M.; Klenk, H. D.; Garten, W. *Identification of Lassa virus glycoprotein signal peptide as a trans-acting maturation factor*. In: *EMBO Rep.* 4 (2003) S. 1084–1088.
- Eichler, R.; Strecker, T.; Kolesnikova, L.; ter Meulen, J.; Weissenhorn, W.; Becker, S.; Klenk, H. D.; Garten, W.; Lenz, O. *Characterization of the Lassa virus matrix protein Z: electron microscopic study of virus-like particles and interaction with the nucleoprotein (NP)*. In: *Virus Res.* 100 (2004) S. 249–255.
- Eschli, B.; Quirin, K.; Wepf, A.; Weber, J.; Zinkernagel, R.; Hengartner, H. *Identification of an N-Terminal Trimeric Coiled-Coil Core within Arenavirus Glycoprotein 2 Permits Assignment to Class I Viral Fusion Proteins*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 5897–5907.
- Fischer, S. A.; Graham, M. B.; Kuehnert, M. J.; Kotton, C. N.; Srinivasan, A.; Marty, F. M.; Comer, J. A.; Guarner, J.; Paddock, C. D.; DeMeo, D. L.; Shieh, W. J.; Erickson, B. R.; Bandy, U.; DeMaria, A. Jr.; Davis, J. P.; Delmonico, F. L.; Pavlin, B.; Likos, A.; Vincent, M. J.; Sealy, T. K.; Goldsmith, C. S.; Jernigan, D. B.; Rollin, P. E.; Packard, M. M.; Patel, M.; Rowland, C.; Helfand, R. F.; Nichol, S. T.; Fishman, J. A.; Ksiazek, T.; Zaki, S. R. *LCMV in Transplant Recipients Investigation Team. Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation*. In: *N. Engl. J. Med.* 354 (2006) S. 2235–2249.
- Fischer, S. A. *Emerging viruses in transplantation: there is more to infection after transplant than CMV and EBV*. In: *Transplantation* 86 (2008) S. 1327–1339.
- Günther, S.; Emmerich, P.; Laue, T.; Kühle, O.; Asper, M.; Jung, A.; Grewing, T.; ter Meulen, J.; Schmitz, H. *Imported lassa fever in germany: Molecular characterization of a new lassa virus strain*. In: *Emerging Infect. Diseases* 6 (2000) S. 466–476.
- Kunz, S.; Rojek, J. M.; Perez, M.; Spiropoulou, C. F.; Oldstone, M. B. *Characterization of the interaction of lassa fever virus with its cellular receptor alpha-dystroglycan*. In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 5979–5987.
- Lisieux, T.; Coimbra, M.; Nassar, E. S.; Burattini, M. N.; de Souza, T. L.; Ferreira, I.; Rocco, I. M.; da Rose, A. P.; Vasconcelos, P. F.; Pinheiro, F. P. *New arenavirus isolated in brazil*. In: *Lancet* 343 (1994) S. 391–392.
- Meyer, B. J.; Southern, P. J. *Sequence heterogeneity in the termini of lymphocytic choriomeningitis virus genomic and anti-genomic RNAs*. In: *J. Virol.* 68 (1994) S. 7659–7664.
- Ou, R.; Zhou, S.; Huang, L.; Moskophidis, D. *Critical role for Alpha/Beta and Gamma interferons in persistence of lymphocytic choriomeningitis virus by clonal exhaustion of cytotoxic T-cells*. In: *J. Virol.* 75 (2001) 8407–84023.
- Palacios, G.; Druce, J.; Du, L.; Tran, T.; Birch, C.; Briese, T.; Conlan, S.; Quan, P. L.; Hui, J.; Marshall, J.; Simons, J. F.; Egholm, M.; Paddock, C. D.; Shieh, W. J.; Goldsmith, C. S.; Zaki, S. R.; Catton, M.; Lipkin, W. I. *A new arenavirus in a cluster of fatal transplant-associated diseases*. In: *N. Engl. J. Med.* 358 (2008) S. 991–998.
- Perez, M.; Greenwald, D. L.; de la Torre, J. C. *Myristoylation of the RING finger Z protein is essential for arenavirus budding*. In: *J. Virol.* 78 (2004) S. 11443–11448.
- Perez, M.; Craven, R. C.; de la Torre, J. C. *The small RING finger protein Z drives arenavirus budding: implications for antiviral strategies*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (2003) S. 12978–12983.
- Polyak, S. J.; Zheng, S.; Harnish, D. G. *5' termini of pichinde arenavirus S RNAs and mRNAs contain nontemplated nucleotides*. In: *J. Virol.* 69 (1995) S. 3211–3215.

- Rambukkana, A.; Kunz, S.; Min, J.; Campbell, K.P.; Oldstone, M.B. *Targeting Schwann cells by nonlytic arenaviral infection selectively inhibits myelination*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (2003) S. 16071–16076.
- Smelt, S. C.; Borrow, P.; Kunz, S.; Cao, W.; Tishon, A.; Lewicki, H.; Campell, K. P.; Oldstone, M. B. A. *Differences in affinity of binding of lymphocytic choriomeningitis virus strains to the cellular receptor α -dystroglycan correlate with viral tropism and disease kinetics*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 448–457.
- Strecker, T.; Eichler, R.; Meulen, J.; Weissenhorn, W.; Klenk, H.D.; Garten, W.; Lenz, O. *Lassa virus Z protein is a matrix protein and sufficient for the release of virus-like particles*. In: *J. Virol.* 77 (2003) S. 10700–10705.
- Urata, S.; Noda, T.; Kawaoka, Y.; Yokosawa, H.; Yasuda, J. *Cellular factors required for Lassa virus budding*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 4191–4195.
- Vieth, S.; Torda, A.E.; Asper, M.; Schmitz, H.; Gunther, S. *Sequence analysis of L RNA of Lassa virus*. In: *Virology* 318 (2004) S. 153–168.
- Weaver, S. C.; Salas, R. A.; Manzione, N. de; Fulhorst, C. F.; Travasos da Rosa, A. P.; Duno, G.; Utrera, A.; Mills, J. N.; Ksiazek, T. G.; Tovar, D.; Guzman, H.; Kang, W.; Tesh, R. B. *Extreme genetic diversity among Pirital virus (Arenaviridae) isolates from Western Venezuela*. In: *Virology* 285 (2001) 110–118.
- Zinkernagel, R. M.; Hengartner, H. *Virally induced immunosuppression*. In: *Curr. Opin. Immunol.* 4 (1992) S. 408–412.

16.2 Bunyaviren



Die Familie der *Bunyaviridae* umfasst viele Virustypen, die unterschiedliche Organismen infizieren können. Ihr Name leitet sich von dem Ort Bunyamwera in Uganda ab, in dem das Bunyavirus erstmals isoliert wurde. Alle

Bunyaviren besitzen ein in *drei Segmente gegliedertes, einzelsträngiges RNA-Genom in Negativstrangorientierung*. Sie kommen unter natürlichen Bedingungen in verschiedenen Säugetieren vor und werden überwiegend durch *Arthropodenstiche und -bisse* übertragen. Menschen werden nur selten infiziert. In solchen Fällen verursachen die Bunyaviren meist fieberhafte Erkrankungen, die mit Hautausschlägen und Gelenkschmerzen verbunden sind. In einigen Fällen, beispielsweise bei Infektionen mit dem *Crimean-Congo-Hemorrhagic-Fever*-(CCHF-)Virus entwickeln sich die Symptome eines hämorrhagischen Fiebers. Infektionen mit den *La Crosse-Viren* sowie mit anderen Vertretern der Serogruppe der Californiaviren sind auf dem amerikanischen Kontinent vor allem bei Kindern eine Hauptursache für Enzephalitiden. Eine direkte Weitergabe der Viren von Mensch zu Mensch erfolgt nur in Ausnahmefällen, zum Beispiel bei nosokomialen Infektionen in Krankenhäusern; einzig die CCHF-Viren werden relativ leicht auch von Infizierten übertragen. Da alle Virustypen auf eine bestimmte Insekten- oder Zeckenart beziehungsweise Nagetierart als Vektor angewiesen sind, hängt ihr geographisches Vorkommen von den Verbreitungsgebieten dieser Organismen ab. Viele humanpathogene Bunyaviren sind in den Tropen und Subtropen zu Hause. Eine Ausnahme bildet das Genus Hantavirus. Einige Vertreter dieses Genus, wie das Puumula- und das Dobravavirus, kommen auch in Europa vor. Diese Viren werden über die *Exkremete* chronisch infizierter Nagetiere ausgeschieden und so übertragen. Beim Menschen verursachen sie – abhängig vom Virustyp – Infektionen der Niere, die sich in milden Verläufen (*Nephropathia epidemica*, NE: Niereninsuffizienz mit Proteinurie), aber auch in fieberhaften, hämorrhagischen Erkrankungen, verbunden mit einer Schädigung der Nierenfunktion (HFRS: hämorrhagisches Fieber mit nephropathischem Syndrom) oder schweren Lungenerkrankungen mit hoher Mortalität (HPS: Hantavirus-assoziiertes pulmonales Syndrom) äußern.

16.2.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Bisher hat man über 350 verschiedene Bunyavirustypen identifiziert. Sie werden in fünf Genera eingeteilt: *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus* und *Tospovirus*. Das letztgenannte umfasst die pflanzenspezifischen Bunyaviren (► Tabelle 16.3) und wird im Rahmen dieses Buches nicht besprochen. Die Einteilung in die unterschiedlichen Genera erfolgt auf der Basis der Wirtsspezifität und der molekularen Eigenschaften. Hierzu



Einige wenige Bunyaviren werden in Europa durch Insekten übertragen

Sandfliegen der Gattungen *Phlebotomus*, *Sergentomyia* oder *Lutzomyia* gelten im europäischen und asiatischen Mittelmeerraum, den arabischen und afrikanischen Ländern, dem mittleren Osten sowie in Zentralasien als Überträger des Sandfliegenfiebers, das von den verschiedenen Typen der Phlebotomus-Fieber-Viren verursacht wird. Zu diesen zählen auch die Typen *Sandfly-Fever-Virus-Naples*, *-Sicilia* und *-Toscana*, die das Neapel- oder Toscanafieber

übertragen. Die Infektionen verursachen beim Menschen gewöhnlich eine leichte, fieberhafte Erkrankung, die mit Hautausschlag und/oder einer aseptischen Meningitis verbunden sein kann und etwa zwei bis vier Tage andauert. Da sich die antigenen Epitope der Oberflächenproteine Gn und Gc bei den verschiedenen Virustypen unterscheiden, sind in Endemiegebieten wiederholte Infektionen und Erkrankungen nicht selten.

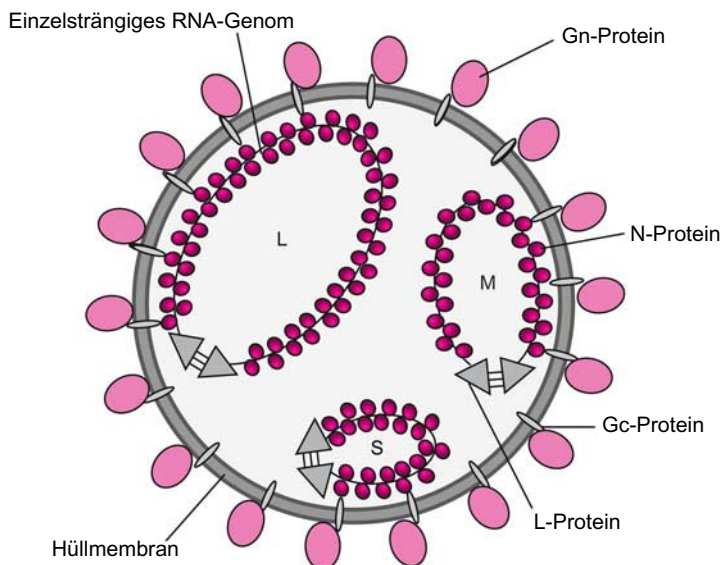
zählen vor allem die konservierten Enden der Genomsegmente, deren Sequenzfolgen innerhalb des Genus weitgehend identisch sind (► Tabelle 16.4), aber auch die Anordnung der Gene auf den Segmenten. Basierend auf den serologischen Eigenschaften der N-Proteine werden verschiedene Viren innerhalb der einzelnen Gattungen zu *Serogruppen* zusammengefasst. Die Unterscheidung der Virustypen erfolgt vor allem aufgrund der charakteristischen Reaktivität der Glycoproteine im Neutralisations- oder Hämagglutinationshemmtest.

16.2.2 Aufbau

Viruspartikel

Die Partikel der Bunyaviren sind *pleomorph*, also vielgestaltig. Sie haben überwiegend eine *sphärische Form*

mit einem Durchmesser von 100 bis 120 nm (► Abbildung 16.3). Man findet in elektronenmikroskopischen Aufnahmen aber auch ovale oder filamentöse Partikel mit einer Länge von über 200 nm. Sie bestehen aus *drei Nucleocapsidsegmenten*, die von einer *Hüllmembran* umgeben sind. Mit dieser ist ein Komplex aus zwei *Glycoproteinen Gn und Gc* (in älterer Literatur als G1 und G2 bezeichnet, siehe auch Exkurs) assoziiert, die etwa 10 nm aus der Virusoberfläche hervorragen und durch proteolytische Spaltung aus einem gemeinsamen Vorläuferprotein GPC (*glycoprotein precursor*) entstehen. Hydrophobe Aminosäurefolgen in den carboxyterminalen Domänen beider Proteine Gn und Gc sind für ihre Verankerung in der Hüllmembran verantwortlich. Die Molekulargewichte sind bei den einzelnen Virustypen unterschiedlich, für Gn schwanken die Zahlen zwischen 30 und 60 kD (55 kD bei Hantaviren, 34–38 kD beim La Crosse-Virus), für Gc zwischen 70 und 125 kD (70 kD



16.3 Darstellung eines Bunyaviruspartikels (Hantavirus). Das Genom besteht aus drei Segmenten einzelsträngiger RNA, die als Negativstrang mit den N- und L-Proteinen zu helikalen Nucleocapsiden komplexieren. Komplementäre Sequenzen an den Enden verleihen ihnen eine quazirkuläre Form. Die Nucleocapside sind von einer Membranhülle umgeben, in welche die Komplexe der viralen Glycoproteine Gn und Gc eingelagert sind.

Tabelle 16.3 Charakteristische Vertreter der Bunyaviren

Genus	Serogruppe	Mensch/ Verbreitung	Tier/ Verbreitung	Überträger/ Natürliche Wirte
Orthobunyavirus	Californiaviren	California-Encephalitis-Virus/ Nordamerika	California-Encephalitis-Virus/ Nordamerika	Stechmücken (<i>Culicoides</i> , <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> spp.)
		La Crosse-Virus/Nordamerika	La Crosse-Virus/Nordamerika	
		Snowshoe-Hare-Virus/ Nordamerika	Snowshoe-Hare-Virus/ Nordamerika	
		Tahynavirus/Europa	Tahynavirus/Europa	
	Simbuviren	Oropouchevirus/Südamerika	Akabanevirus/Japan Ainivirus/Japan Shamondavirus/Japan Shinivirus/Japan	Stechmücken (<i>Culicoides</i> , <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> spp.)
Gruppe C	Apeuvirus/Südamerika	Apeuvirus/Südamerika	Stechmücken (<i>Culicoides</i> <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> spp.)	
Bwambaviren	Bwambavirus/Afrika Pongolavirus/Afrika	Bwambavirus/Afrika	Bwambavirus/Afrika	Stechmücken (<i>Culicoides</i> , <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> spp.)
		Pongolavirus/Afrika	Pongolavirus/Afrika	
Bunyamwera- viren	Bunyamwera-virus/Afrika Nyandovirus/Afrika Cache-Valley-Virus/Amerika Fort-Sherman-Virus/ Zentralamerika Xinguvirus/Südamerika	Bunyamwera-virus/Afrika	Bunyamwera-virus/Afrika	Stechmücken (<i>Culicoides</i> , <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> spp.)
		Nyandovirus/Afrika	Nyandovirus/Afrika	
		Cache-Valley-Virus/Amerika	Cache-Valley-Virus/Amerika	
		Fort-Sherman-Virus/ Zentralamerika	Fort-Sherman-Virus/ Zentralamerika	
Phlebovirus	Sandfly-Fever-Virus-Toscana/ Südeuropa Sandfly-Fever-Virus-Sicily/ Südeuropa Sandfly-Fever-Virus-Naples/ Südeuropa	Sandfly-Fever-Virus-Toscana/ Südeuropa		Stechfliegen (<i>Phlebotomus</i> spp.)
		Sandfly-Fever-Virus-Sicily/ Südeuropa		
		Sandfly-Fever-Virus-Naples/ Südeuropa		
	Rift-Valley-Fieber-Virus/ Afrika	Rift-Valley-Fieber-Virus/ Afrika	Stechmücken (<i>Aedes</i> spp., <i>Culicoides</i> spp.), Zecken (<i>Hyalomma</i> spp.)	
		Uukuniemivirus der Vögel/ Europa	Zecken	
Nairovirus	CCHF*-Virus/Vorderasien, Türkei, Afghanistan	CCHF*-Virus/Vorderasien, Türkei, Afghanistan Dugbevirus (Nairobi-Sheep- Disease-Virus)/Afrika	Stechmücken (<i>Culicoides</i> spp.), Zecken Zecken	
Hantavirus	Hantaanvirus/Südostasien Seoulvirus/Südostasien	Hantaanvirus/Südostasien	Hantaanvirus/Südostasien	<i>Apodemus agrarius</i> <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i>
		Seoulvirus/Südostasien	Seoulvirus/Südostasien	
	Dobravavirus/Südosteuropa Tulavirus/Mittel-, Osteuropa	Dobravavirus/Südosteuropa Tulavirus/Mittel-, Osteuropa	<i>Apodemus flavicollis</i> <i>Microtus arvalis</i> , <i>M. rossiaemeridionalis</i>	
	Puumalavirus/Mitteuropa	Puumalavirus/Mitteuropa	<i>Clethrionomys</i> <i>glareolus</i>	
	Sin-Nombre-Virus/Amerika	Sin-Nombre-Virus/Amerika	<i>Peromyscus leucopus</i> , <i>P. maniculatus</i>	
Andes-Virus/Amerika	Andes-Virus/Amerika	<i>Oligoryzomys longi- caudatus</i>		

*CCHF: Crimean-Congo-Hemorrhagic-Fever (Krim-Kongo-Fieber). In dieser Tabelle sind nur die Serogruppen und Virustypen als Beispiele angeführt, die bekannterweise bei Menschen Erkrankungen verursachen oder als relativ gut charakterisierte Prototypen gelten.



Die Gn- und Gc-Proteine der Bunyaviren heißen früher G1 und G2

Traditionell bezeichnete man bis vor einigen Jahren bei den verschiedenen Bunyavirustypen immer das Spaltprodukt der G-Proteine mit dem größeren Molekulargewicht als G1. Da die Spaltung des GPC-Vorläuferproteins bei den verschiedenen Virustypen jedoch an ganz verschiedenen Stellen erfolgt, entsprach das G1-Protein bei einigen Virustypen dem aminoterminalen Ende, wie das zum Beispiel bei Hantaviren der Fall ist, bei anderen jedoch dem carboxytermi-

nal Anteil. Dies führte wiederholt zu Missverständnissen und Verwirrungen, da ihrer Funktion analoge G-Proteinabschnitte in der Literatur nicht immer dieselben Bezeichnungen aufwiesen. Vor kurzem kam man daher überein, die Glyoproteine, die sich vom aminoterminalen Teil des GPC-Proteins ableiten, grundsätzlich mit „Gn“ zu benennen. Die von den carboxyterminalen Bereichen abgeleiteten Proteine heißen in der neuen Literatur dementsprechend „Gc“.

bei Hantaviren, 125 kD beim La Crosse-Virus). Bei einigen Vertretern des Genus *Nairovirus* scheint ein weiteres Protein mit der Membran assoziiert zu sein, das ebenfalls durch proteolytische Spaltung aus dem Vorläuferprotein GPC entsteht. Die helikalen Nucleocapside bestehen aus einzelsträngiger RNA, die mit dem *N-Protein* (20 bis 50 kD; 48 kD bei Hantaviren, 27 kD beim La Crosse-Virus) komplexiert ist. Pro Partikel findet man etwa 2 100 Einheiten des N-Proteins. Zusätzlich enthalten die Virionen etwa 25 Kopien des *L-Proteins*, die mit den Nucleocapsiden assoziiert sind. Sie weisen meist Molekulargewichte zwischen 240 und 270 kD (247 kD bei Hantaviren, 263 kD beim La Crosse-Virus) auf, das L-Protein des CCHF-Virus (Crimean-Congo-Hemorrhagic-Fever) ist jedoch mit einer geschätzten Masse von 448 kD deutlich größer. Die L-Proteine fungieren als RNA-abhängige RNA-Polymerase.

Genom und Genomaufbau

Das einzelsträngige RNA-Genom der Bunyaviren liegt in drei Segmenten vor. An den 3'- und 5'-Enden befinden sich *komplementäre Abschnitte* von acht bis elf Nucleotiden Länge, die miteinander Doppelstrangregionen ausbilden (► Tabelle 16.4). Die RNA-Moleküle liegen dadurch in einer *quasizirkulären, pfannenstiellähnlichen Form* vor. Die konservierten Genomenden enthalten die *cis*-aktiven Consensussequenzen für die Initiation der Transkription und der Replikation. Die Segmente umfassen insgesamt etwa 12 000 Basen RNA; nur die Vertreter des Genus *Nairovirus*, wie beispielsweise das CCHF-Virus, haben mit etwa 18 000 Basen RNA eine deutlich größere Codierungskapazität (► Abbildung 16.4).

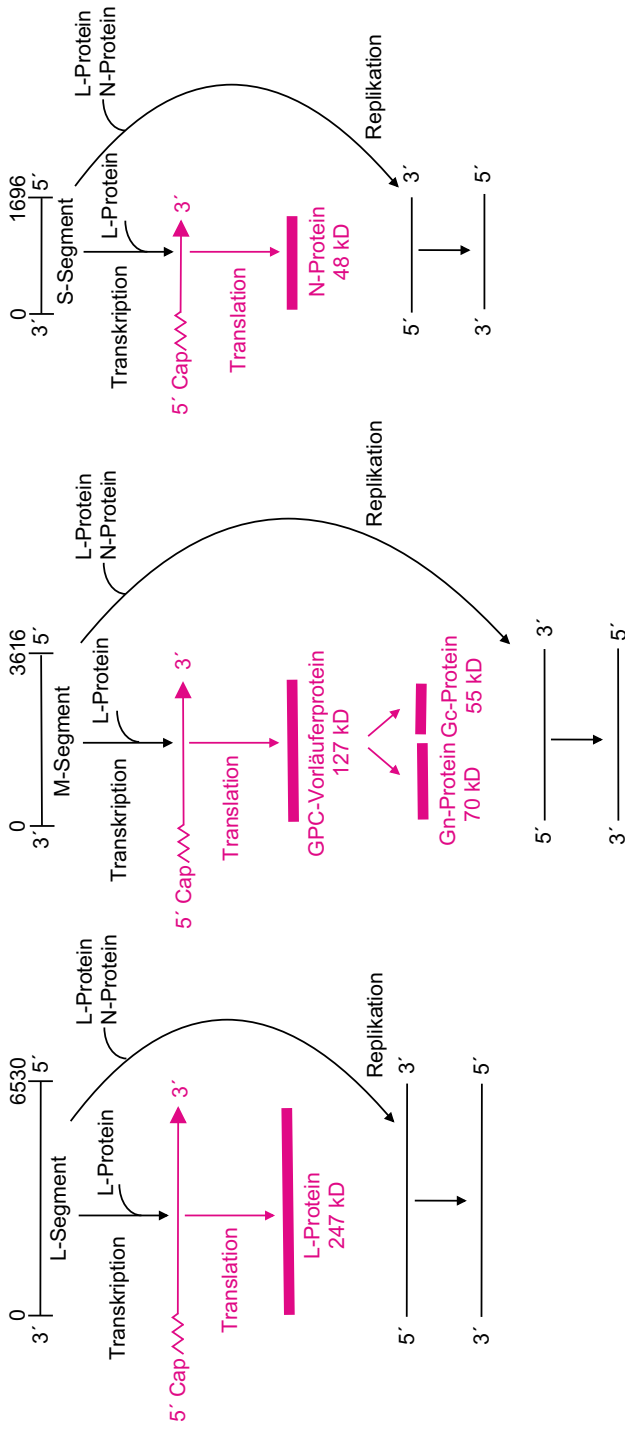
Das *L-Segment* (L = *large*) besitzt bei der überwiegenden Mehrheit der Vertreter der *Bunyaviridae* durchschnittlich 6 330 bis 9 000 Basen und codiert für das L-

Protein. Deutlich größer ist mit über 12 000 Basen nur das *L-Segment* der *Nairoviren*. Das *M-Segment* (M = *middle*) ist 2 300 bis 5 000 Basen lang und enthält die Information für die G-Proteine sowie – bei den Vertretern der Gattungen *Bunyavirus* und *Phlebovirus* – für das Nichtstrukturprotein NSm. Das *S-Segment* (S = *small*) hat eine Länge von etwa 960 bis 3 000 Basen. Bei den Genera *Nairovirus* und *Hantavirus* codiert es für das N-Protein. Bei den Vertretern des Genus *Orthobunyavirus* findet man ein zweites Gen (*NSs*), das unter Verwendung eines alternativen Startcodons von derselben mRNA-Spezies translatiert wird. Bei den *Phleboviren* besitzt das S-Segment *Ambisense-Orientierung*: Vom Antigenomstrang, der als Zwischenprodukt bei der Replikation entsteht, wird eine mRNA-Spezies transkribiert, die für die Transkription eines *NSs-Proteins* (*NSs* = *non-structural protein, small segment*) dient. Die Leserahmen überlappen nicht miteinander. In den intergenischen Bereichen scheinen die Basen schleifenartige, teilweise doppelsträngige *Sekundärstrukturen* auszubilden, die als Terminationssignale für die Transkription dienen. ► Tabelle 16.5 gibt einen Überblick über die verschiedenen Charakteristika der Bunyavirusgenome.

Tabelle 16.4 Konservierte Basenfolgen an den Genomenden der Bunyaviren

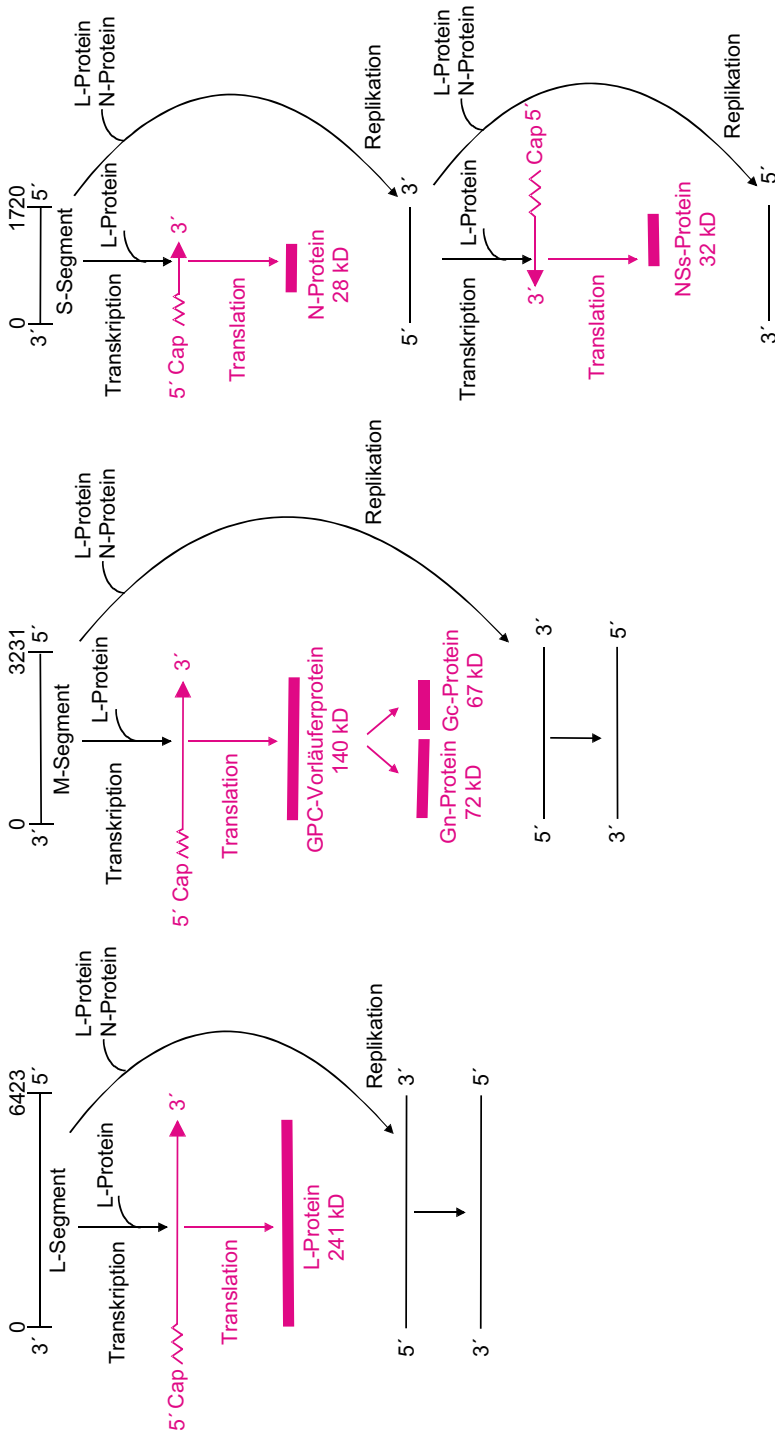
Genus	3'-Ende	5'-Ende
Bunyavirus	UCAUCAUGA...UCGUGUGAUUGA
Hantavirus	AUCAUCAUCUG...AUGAUGAU
Nairovirus	AGAGUUUCU...AGAAACUCU
Phlebovirus	UCUCGUUAG...CUAACGAGA

A Hantavirus (Hantaanvirus)



16.4 Schematische Darstellung der Transkription, Translation und Genomreplikation bei den Bunyviridae. **A:** Hantavirus (Hantaanvirus).

B Phlebovirus (Uukuniemivirus)



16.4 (Fortsetzung) B: Phlebovirus (Uukuniemivirus). Die genomischen L-, M- und S-Segmente werden in gecappte mRNA-Spezies transkribiert; die gecappten RNA-Oligonucleotide, die als Primer verwendet werden, stammen von zellulären Transkripten und werden von diesen abgeschnitten. Diese Schritte werden durch das L-Protein, das als Teil der Viruspartikel in die Zelle gelangt ist, katalysiert. Von den gebildeten mRNAs werden die Proteine L, GPC (Gn und Gc beziehungsweise Gn, NSm und Gc), N und NSs translatiert. Liegen ausreichende Mengen von neusynthetisierten N-Proteinen in der Zelle vor, erfolgt die Bildung ungecappter RNA-Stränge in positiver Orientierung (Antigenome). Diese dienen als Matrizen für die Bildung von RNA-Molekülen in Negativstrangorientierung, die denen der Genomsegmente entsprechen. Beim Uukuniemivirus wird vom Antigenom des S-Segments eine weitere mRNA transkribiert, von welcher das NSs-Protein translatiert wird. Das S-Segment besitzt in diesem Fall also *Ambisense-Orientierung*.

Tabelle 16.5 Eigenschaften der Genomsegmente von Bunyaviren und der durch sie codierten Proteine

Segment		Bunyavirus	Hantavirus	Nairovirus ^a	Phlebovirus		Funktion
L	Basenlänge	6 875	6 530	12 164	6 423 ^b	6 404 ^c	
	Proteine/kD	L/259	L/247	L/448	L/241	L/247	RNA-abhängige RNA-Polymerase
M	Basenlänge	4 458	3 616	4 888	3 231	3 884	
	Proteine/kD ^d	Gn/32 NSm/18 Gc/110	Gn/70 Gc/55	Gn/35 Gc/73	Gn/72 Gc/67	NSm/14 Gn/55 Gc/62	Gn/Gc-Proteine: glycosylierte Oberflächenproteine, die durch proteolytische Spaltung des GPC-Vorläuferproteins entstehen; Adsorption, Fusion, Induktion neutralisierender Antikörper NSm-Protein: integrales Membranprotein der Golgi-Vesikel; für Morphogenese
S	Basenlänge	961	1 696	1 677	1 720 ^b	1 690 ^c	
	Proteine/kD	N/26 NSs/11 ^e	N/48	N/48–50	N/28 NSs/32 ^f	N/28 NSs/29 ^f	N-Protein: RNA-Bindung; RNA-Chaperon (dsRNA-Helicase); Cap-Snatching; Ribosomenbindung; Hauptkomponente des Nucleocapsids NSs-Protein: Antiinterferonwirkung

Als Molekulargewichte sind die theoretischen Werte angegeben, die sich aus der Aminosäuresequenz ableiten lassen.

^a Crimean-Congo-Hemorrhagie-Fieber-Virus.

^b Werte in gesamter Spalte gelten für das Uukuniemivirus.

^c Werte in gesamter Spalte gelten für das Rift-Valley-Fieber-Virus.

^d Die Proteine sind entsprechend der Reihenfolge auf dem Vorläuferprotein angegeben, aus dem sie durch Proteasen herausgeschnitten werden.

^e Das NSs-Protein der Bunyaviren wird unter Verwendung eines alternativen Startcodons translatiert.

^f Das NSs-Protein der Phleboviren wird von einer subgenomischen RNA in gegenläufiger Orientierung gebildet.

16.2.3 Virusproteine

Strukturproteine

Membranproteine Die *G-Proteine* der Hantaviren werden als Vorläuferprotein GPC von etwa 125 kD synthetisiert und durch eine zelluläre Protease, die mit den Golgi-Vesikeln oder mit dem endoplasmatischen Retikulum assoziiert ist, in einen *aminoterminalen Anteil Gn* (55 kD) und das *Gc-Protein* (70 kD) gespalten, die sich zu einem heteromultimeren Komplex zusammenlagern. Beim Vergleich der Aminosäuresequenzen der verschiedenen Hantavirustypen findet man in den Gc-Teilen etwa 43, in den Gn-Proteinen 55 Prozent Homologie. Vom aminoterminalen Bereich des GPC-Vorläuferproteins der Nairoviren wird durch Proteolyse ein relativ großes Fragment abgespalten. Es entspricht vermutlich dem dritten Glycoprotein (173 kD), das man gelegent-

lich in den Viruspräparationen findet. Die Gn- und Gc-Proteine (35 kD beziehungsweise 73 kD) entstehen bei den Nairoviren durch Spaltung aus der zentralen und carboxyterminalen Region des Vorläuferproteins. Sowohl bei den Bunya- als auch bei den Phleboviren entsteht durch Proteolyse des Vorläuferprodukts zusätzlich zu Gn und Gc ein kleineres Protein: *NSm (non-structural protein, middle segment)*. Bei den Orthobunyaviren liegt es zwischen dem aminoterminalen Gn- (32 kD) und dem Gc-Protein (110 kD) und besitzt ein Molekulargewicht von 18 kD. Beim Rift-Valley-Fieber-Virus, einem Phlebovirus, befindet sich das NSm-Protein (14 kD) dagegen am aminoterminalen Ende des GPC-Proteins. Seine Funktion ist nicht endgültig geklärt: Die Deletion der für das NSm-Protein codierenden Sequenz hatte keinen Einfluss auf die Vermehrung des Maguari-Virus in Zellkulturen. Beim Bunyavirus scheint das NSm-Protein zusammen mit den Gn- und Gc-Proteinen in die Mem-

bran der Golgi-Vesikel einlagert zu werden und für die Morphogenese der Viruspartikel wichtig zu sein.

Mit den cysteinreichen *glycosylierten* und *acylierten* Gn- und Gc-Proteinen adsorbieren die Viren an die *zellulären Rezeptoren*. Das Gc-Protein ist bei den Orthobunyaviren für die Bindung an die Rezeptoren sowohl auf der Oberfläche der Insekten- als auch der Säugetierzellen verantwortlich. Integrine $\alpha_v\beta_3$ sind zusammen mit weiteren zellulären Komponenten (30 kD Protein, 70 kD Protein) an der Bindung der nephropathischen Hantaviren an die Zelloberfläche beteiligt; nicht pathogene Hantaviren wie Prospect-Hill und Tulavirus binden sich dagegen an das Integrin $\alpha_5\beta_1$. Es wird diskutiert, ob die Bindung der Hantaviren an Integrine $\alpha_v\beta_3$ auch deren Aufgaben bei interzellulären Wechselwirkungen, beispielsweise bei der Aggregation der Blutplättchen beeinflusst. Dies könnte dazu beitragen, dass die Barrierefunktion der Blutgefäße und -kapillaren verloren geht. Die Bindung der Hantaviren an Integrine $\alpha_v\beta_3$ behindert die β_3 -gerichtete Wanderung der Endothelzellen. Zusätzlich haben die mit HPS assoziierten Hantaviren in der cytoplasmatischen Domäne ihrer Gc-Proteine eine Aminosäurefolge, die tyrosinabhängige zelluläre Kinasen aktiviert. Diese regulieren neben der immunologischen Abwehr auch die Endothelzellfunktion. Ob die Aktivierung dieser Kinasen die Pathogenese der mit HPS assoziierten Hantavirusinfektionen zusätzlich beeinflusst, ist unklar. Sie scheint aber für das unterschiedliche Potenzial der Hantaviren zur Induktion der Interferonantwort verantwortlich zu sein: Sie befähigt die nichtpathogenen Stämme, die Synthese von IFN- γ einzuleiten. Die cytoplasmatische Domäne interagiert dabei mit der Kinase TBK-1 (*TANK-binding kinase 1*), aktiviert diese und bewirkt die Phosphorylierung des *interferon-regulating factors 1* (IRF-1) und des I κ B, des Inhibitors von NF κ B – beides Voraussetzungen für die Expression des IFN- γ -Gens. Auch gibt es Hinweise, dass die cytoplasmatische Domäne der pathogenen Stämme die dsRNA-Helicase RIG-1 (*retinoic-acid-inducible gene 1*) hemmt. Diese wiederum ist für die Einleitung der interferonabhängigen Signalwege notwendig, die durch virale Doppelstrang-RNA vermittelt wird.

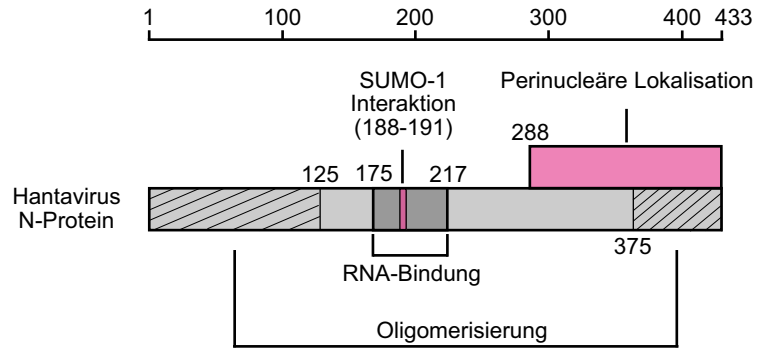
Die Proteolyse des GPC-Proteins setzt eine mit den Gc-Proteinen verbundene *Fusionsaktivität* frei, die zudem von *saurem pH-Wert* abhängig ist und in den Gc-Proteinen strukturelle Umlagerungen induziert. Die Gn- und Gc-Proteine scheinen, ähnlich wie der HA₁/HA₂-Proteinkomplex der Influenzaviren (► Abschnitt 16.3), nach der Aufnahme der Viruspartikel die Fusion der Virus- und der Endosomenmembran zu vermitteln.

Die Gn-Proteine enthalten Sequenzen, die für ihre Lokalisation in der Golgi-Membran verantwortlich sind. Diese Aminosäurefolgen verhindern, dass die

Virusproteine über die Golgi-Vesikel weiter zur Zelloberfläche transportiert werden. Das Zurückhalten der Proteine ist für die Bildung infektiöser Partikel wichtig, weil in diesem Zellkompartiment die Morphogenese erfolgt. Die Nucleocapside lagern sich an die G-Proteine an und die neu gebildeten Virionen entstehen durch Knospung in die Golgi-Vesikel. Für einige Vertreter der Hantaviren, die beim Menschen HPS verursachen, gilt dies nicht: Bei diesen Virustypen findet man die Gn- und Gc-Proteine verankert in der Cytoplasmamembran. Die neu gebildeten Viruspartikel werden von der Zelloberfläche abgeschnürt.

Komponenten des Nucleocapsids Die *N-Proteine* werden auf dem S-Segment des Genoms codiert. Bei den Hantaviren haben sie ein Molekulargewicht von etwa 50 kD, bei den Bunya- und Phleboviren sind sie mit 26 bis 28 kD deutlich kleiner. In den infizierten Zellen werden große Mengen der N-Proteine synthetisiert, sie bilden im Cytoplasma Aggregate, die als Einschlusskörperchen oder Filamente nachweisbar sind. Als Trimere assoziieren die N-Proteine mit den RNA-Molekülen und stellen die Hauptkomponente der Nucleocapside wie auch der Viruspartikel dar. Die amino- und carboxyterminalen Enden der N-Proteine sowie ein zentraler Abschnitt mit basischen Aminosäureresten sind hochkonserviert. Bei den Hantaviren sind die für die Oligomerisierung verantwortlichen Domänen in den amino- und carboxyterminalen Abschnitten des N-Proteins zu finden, wohingegen die zentrale Domäne (Aminosäuren 175 bis 217) für die Wechselwirkung mit der RNA verantwortlich ist (► Abbildung 16.5). Des Weiteren interagieren die N-Proteine der Hantaviren mit hoher Affinität mit den doppelsträngigen, pfannenstielähnlichen RNA-Abschnitten an den Enden der viralen Genomsegmente. Sie binden sich auch – mit geringerer Affinität – an dsRNA-Strukturen, die man an den Enden der in Plusstrangorientierung vorliegenden Replikationsintermediate findet. Durch die Wechselwirkung wird eine mit den N-Proteinen verbundene RNA-Chaperon-Aktivität ausgelöst, welche die doppelsträngigen RNA-Abschnitte in 3' → 5'-Richtung entwindet. Im Anschluss an diesen Vorgang bleibt das trimere N-Protein mit dem 5'-Ende der RNA-Segmente assoziiert und bewirkt die Anlagerung der kleinen Ribosomenuntereinheit. Vermutlich ist dieser Vorgang auch für die Bindung der L-Proteine und die Initiation von Transkription und Genomreplikation essenziell. Außerdem haben die N-Proteine Aufgaben beim Vorgang des „Cap-Stehlens“ (*cap-snatching*) sowie bei der Morphogenese der Viruspartikel. Als Hauptkomponenten der Nucleocapsidsegmente binden sie an die in das Cytoplasma orientierten Domänen der membranverankerten Gn- und Gc-Pro-

16.5 Schematische Darstellung des N-Proteins der Hantaviren und seiner funktionellen Domänen. Die Zahlenangaben beziehen sich auf die Aminosäurepositionen, beginnend am aminoterminalen Ende.



teine. Außerdem interagieren die N-Proteine mit zellulären Proteinen: Über seine carboxyterminale Domäne bindet sich das N-Protein der Hantaviren an das zelluläre Daxx-Protein, einem Transrepressor-Protein, das die Einleitung der Apoptose unterdrückt. Möglicherweise behindert die Wechselwirkung mit dem N-Protein diese Regulatorfunktion und ist für die Induktion der Fas-abhängigen Apoptose verantwortlich, die in hantavirusinfizierten Zellen eingeleitet wird. Auch scheint das N-Protein der Hantaviren mit SUMO-1 (*small ubiquitin-like modifiers*) zu interagieren und die SUMOylierung von zellulären Proteinen zu beeinflussen – welche zellulären Funktionen davon betroffen sind, ist jedoch noch ungeklärt. Die N-Proteine der La Crosse-, Rift-Valley-Fieber- und CCHF-Viren binden sich an die durch Interferon- α induzierten MxA-Proteine (► Kapitel 8 und Abschnitt 16.3). Die N-Proteine werden dadurch im perinucleären Raum gehalten und stehen für die Aufgaben bei der Replikation der RNA-Segmente nicht zur Verfügung – dadurch wird die Virusinfektion begrenzt. Für die Hantaviren konnte dies bisher nicht gezeigt werden.

Die *L-Proteine* besitzen die Aktivität einer *RNA-abhängigen RNA-Polymerase*. Sie werden sowohl für die Transkription des Genoms in mRNA-Spezies als auch für die Genomreplikation benötigt. Das L-Protein der Hantaviren besitzt ein theoretisches Molekulargewicht von 247 kD, was etwa dem des aus Viruspräparationen gereinigten Proteins entspricht. Seine Polymeraseaktivität ist von Mn^{2+} -Ionen abhängig. Die L-Proteine der Hantavirustypen besitzen untereinander eine ausgeprägte Homologie (70 bis 85 Prozent). Bei den Vertretern der anderen Genera, mit Ausnahme der Nairoviren, besitzen die L-Proteine eine ähnliche Größe (263 kD beim La Crosse-Virus, 239 kD bei den Phleboviren). Beim CCHF-Virus, einem Vertreter der Gattung Nairovirus, weist das L-Protein mit 448 kD ein deutlich größeres Molekulargewicht auf. Im Vergleich zu den Orthobunya-, Phlebo- und Hantaviren besitzt es im aminoterminalen Bereich etwa 1 800 zusätzliche Amino-

säuren. In diesem für die Nairoviren charakteristischen Teil des L-Proteins findet man nahe dem aminoterminalen Ende eine Sequenzfolge, die den *OTU-ähnlichen Proteasen* (*ovarian tumor-like protease*) gleicht. Diese OTU-Proteasen sind Cysteinproteasen der Papainfamilie. Die L-Proteine der Nairoviren weisen mit dieser aminoterminalen Domäne Ähnlichkeiten zu den entsprechenden Proteinen verschiedener Pflanzenviren, wie den Carla- oder Foveaviren, auf. Bei diesen spaltet sich die OTU-ähnliche Protease des Vorläuferproteins autokatalytisch aus der Sequenzfolge heraus und generiert durch weitere Spaltungen neben der RNA-abhängigen RNA-Polymerase auch eine Helicase, die bei der Genomreplikation doppelsträngige RNA-Strukturen auflöst. Der Befund, dass die Nairoviren über eine OTU-ähnliche Proteindomäne im L-Protein verfügen, legt die Vermutung nahe, dass es sich auch hier um Polyproteine handelt, die autokatalytisch in verschiedene Untereinheiten gespalten werden. Außerdem ist für die OTU-Proteasen eine deubiquitylierende Aktivität gezeigt worden. Ob die L-Proteine der Nairoviren über derartige Funktionen verfügen und ob entsprechende Aktivitäten im Infektionszyklus entfaltet werden, ist bislang nicht geklärt.

Nichtstrukturproteine

Einige Vertreter der Bunyaviridae codieren für zwei Nichtstrukturproteine. Das NSm-Protein, ein Spaltprodukt des GPC-Vorläuferproteins, wurde bereits erwähnt.

Bei den Orthobunyaviren wird ein *NSs-Protein* (11 kD) im gleichen Leserahmen wie das N-Protein auf dem S-Segment codiert. Es wird unter Verwendung eines alternativen Startcodons in einem anderen Leseraster translatiert. Deswegen sind die beiden Proteine nicht homolog. Das NSs-Protein der Phleboviren (32 kD beim Unkunienvirus) wird ebenfalls auf dem S-Segment codiert, jedoch in umgekehrter Orientierung zum N-Protein. Die beiden Leserahmen laufen somit aufeinander zu, sind aber durch eine intergenische Basenfolge voneinander getrennt, in der die Termina-

tionssignale der Transkription liegen. Für die Infektion und Replikation in Zellkultur ist das NSs-Protein beim Rift-Valley-Fieber-Virus wie auch beim La Crosse-Virus nicht notwendig. Daneben finden sich über die Funktion der NSs-Proteine bei den unterschiedlichen Viren jedoch auch widersprüchliche Daten. Beim Rift-Valley-Fieber-Virus fördert es in einem *in vitro*-System die Replikation und Transkription der RNA-Segmente, beim Bunyavirus fand sich eine gegenteilige Wirkung. Beim La Crosse-Virus zeigten NSs-Deletionsmutanten eine im Vergleich zum Wildtypvirus verringerte Abschaltung der Zellfunktionen und eine verringerte Einleitung der Apoptose. Ähnliche Wirkungen fand man bei Konstruktion entsprechender Deletionsmutanten des Rift-Valley-Fieber-Virus, sie waren jedoch stark von den verwendeten Zellen abhängig. Das NSs wirkt hier als Interferonantagonist; es bindet sich an die p44 Untereinheit des zellulären Transkriptionsfaktors TFIIF und hemmt die Funktion der RNA-Polymerase II. Als Folge ist die Transkription der zellulären Gene, auch der Interferongene, gestört. Beim La Crosse-Virus unterdrückt das NSs-Protein den Vorgang der *RNA-Interferenz* (RNAi), beim dem die Genexpression durch kurze, doppelsträngige „interferierende“ RNA-Moleküle (siRNA) sequenzspezifisch unterdrückt wird: Eine durch RNA-Interferenz verursachte Hemmung der Transkription des viralen M-Segments wurde durch das NSs-Protein aufgehoben. Die NSs-Proteine können den Verlauf und die Pathogenese der Infektionen beeinflussen, indem sie den Viren ermöglichen, die Interferonproduktion zu hemmen und dadurch den Interferon- α und - β vermittelten Abwehrreaktionen zu entgehen. Virusmutanten, die einen Verlust der normalen NSs-Funktion haben, sind hingegen gute Induktoren von Klasse-I-Interferon und erweisen sich im Tier als hochgradig attenuiert.

16.2.4 Replikation

Viele Details der Bunyavirusreplikation konnten bisher nicht geklärt werden, darunter die Frage, an welche zellulären Rezeptoren sich die Viren binden. Bei den meisten Hantaviren wurden Integrine $\alpha_v\beta_3$ als zelluläre Interaktionspartner identifiziert. Seitens des Virus wird dieser Schritt von den Gc-Proteinen vermittelt. Auch ist für das Hantaanvirus die Interaktion mit gC1qR/p32 gezeigt. Dabei handelt es sich um ein glycosyliertes Zelloberflächenprotein, das mit der Komplementkomponente C1q interagiert. Nach der Bindung an die Zelloberfläche werden die Viruspartikel durch rezeptorvermittelte Endocytose in das Cytoplasma aufgenommen:

Die Ansäuerung des Vesikelinneren – vermutlich durch eine Ionenpumpe in der Endosomenmembran – ist Voraussetzung für die Umlagerung des Gc-Proteins und die damit verbundene Induktion der fusogenen Aktivität. Anschließend werden die Nucleocapside in das Cytoplasma entlassen, wo alle weiteren Schritte des Replikationszyklus – ähnlich wie bei den Flavi- und Togaviren (► Abschnitte 14.5 und 14.6) – in Assoziation mit perinucleären Membrankompartimenten erfolgen.

Die Transkription der Genomsegmente erfolgt durch die RNA-abhängige RNA-Polymeraseaktivität des L-Proteins, das mit den Nucleocapsiden assoziiert ist (► Abbildung 16.4). Die Initiation ist – ähnlich wie bei den Orthomyxoviren – *primerabhängig*. Die gebildeten Transkripte besitzen an ihren 5'-Enden eine *methylierte Cap-Gruppe* und zehn bis 18 zusätzliche, nicht viruscodierte Nucleotide, die von zellulären mRNAs abstammen. Die Bunyaviren haben ähnlich wie die Orthomyxoviren den Mechanismus des Cap-Stehlens (*cap-snatching*) entwickelt (► Abschnitt 16.3). Verantwortlich hierfür ist das multifunktionelle N-Protein. Dieses gelangt in die *P-bodies* (*processing bodies*) im Cytoplasma, den Orten der Zelle, an denen defekte oder nicht mehr aktive Transkripte abgebaut werden. Während dieses Vorgangs entfernt das zelluläre Decapping-Enzym DCP2/DCP1 die 5'-Cap-Enden und schneidet diese zusammen mit einer Oligonucleotidsequenz von den Transkripten ab. Das N-Protein bindet sich an diese 5'-gecappten Oligonucleotide, sammelt sie ein und transportiert sie zu den viralen Genomsegmenten. Sie fungieren als Primer für die Synthese der viralen mRNAs, wobei ihre 3'-OH-Enden als Ausgangspunkte für die Elongation genutzt werden. Gleichzeitig löst die RNA-Chaperon-Aktivität der N-Proteine die Doppelstrangstruktur der viralen Genomsegmente in Einzelstränge auf. Die N-Proteine sind zusätzlich aber auch für die Anlagerung der kleinen Ribosomenuntereinheit an die 5'-gecappten Enden verantwortlich. Sie ersetzen dabei den gesamten zellulären eIF4F-Komplex mit dem Cap-Bindeprotein eIF4E, der RNA-Helicase eIF4A und dem Protein eIF4G.

Die Bildung langer Transkripte ist darauf angewiesen, dass gleichzeitig Proteine synthetisiert werden. Vermutlich binden sich noch während der Transkription Ribosomen an das 5'-Ende der mRNA und verhindern, dass sich zwischen der mRNA und dem Genom ein RNA-Doppelstrang ausbildet, der die Verlängerung der Transkripte verhindert. Andererseits könnten auch Wirtszellproteine mit der entstehenden mRNA wechselwirken und die Bildung von RNA/RNA-Hybriden unterdrücken. Die Transkription setzt sich nicht bis zu den Enden der Genomsegmente fort, sondern endet etwa 50 bis 100

Nucleotide davor. Bei der Transkription des S-Segments der Phleboviren endet die Transkription an einem Terminationssignal, das sich etwa in der Mitte des Moleküls befindet (► Abbildung 16.4B). Die 3'-Enden der mRNA werden offensichtlich nicht polyadenyliert.

Die Translation der mRNA in Protein wird folglich noch im Verlauf der Transkription initiiert. Die GPC-Vorläuferproteine werden mittels einer aminoterminalen Signalsequenz durch die Membran des endoplasmatischen Reticulums geschleust und dort verankert. Sie werden durch eine mit diesem Kompartiment assoziierte Protease prozessiert, sodass die Proteine Gn und Gc und – in manchen Fällen – NSm entstehen. Im weiteren Verlauf werden die Proteine glycosyliert und durch Anfügen von Fettsäuren modifiziert.

Danach muss ein vollständiger, durchgehender RNA-Gegenstrang synthetisiert werden. Dieser RNA-Plusstrang ist nicht gecappt und besitzt keine zusätzlichen Basen am 5'-Ende – ob sie für die Initiation andere Primer benötigt, ist unklar. Für die Bildung dieser *Antigenome* muss die Aktivität des L-Proteins modifiziert werden; möglicherweise geschieht das durch Interaktion mit den neusynthetisierten N-Proteinen. Danach komplexieren die Antigenome mit N-Proteinen und dienen als Matrizen für die Bildung neuer viraler Genomsegmente in Negativstrangorientierung. In menschlichen Zellen, die mit La Crosse-, CCHF- oder Rift-Valley-Fieber-Viren infiziert sind, wird dieser Vorgang durch Interferon unterdrückt, indem das interferoninduzierte MxA-Protein die neu gebildeten N-Proteine durch Komplexbildung funktionell inaktiviert und so die Replikation blockiert. Im Falle des S-Segments der Phleboviren, das ähnlich der Genomsegmente der Arenaviren in *antisense*-Orientierung genutzt wird (► Abschnitt 16.1), dient der RNA-Plusstrang nicht nur für die Synthese neuer Negativstränge, sondern auch für die Bildung NSs-spezifischer mRNAs (► Abbildung 16.4B).

Die bei der Replikation gebildeten Genomsegmente interagieren mit den N- und L-Proteinen zu Nucleocapsiden. Elektronenmikroskopische Daten weisen darauf hin, dass die Morphogenese – mit Ausnahme der respiratorischen Hantaviren, die sich an der Cytoplasmamembran zusammenbauen – an den *Membranen der Golgi-Vesikel* abläuft. Die G-Proteine sind hier stark angereichert, und die Nucleocapside interagieren vermutlich über Domänen der N-Proteine mit den intracytoplasmatischen Anteilen der G-Proteine. Die Golgi-Membran umhüllt die Nucleocapsidsegmente, die so entstehenden Partikel werden in das Lumen der Golgi-Vesikel abgeschnürt, die anschließend an die Zelloberfläche transportiert werden. Hier verschmilzt die Vesikel- mit der Cytoplasmamembran, und die Viren werden in die Umgebung abgegeben.

Ähnlich wie bei den Orthomyxoviren gibt es auch bei den Bunyaviren keine Hinweise auf einen Mechanismus, der dafür sorgt, dass jedes Viruspartikel die für die Infektiosität richtige Kombination an Nucleocapsidsegmenten erhält. *In vitro* können bei Coinfektion derselben Kultur mit verschiedenen Virusvarianten Reassortanten erzeugt werden, was auch unter natürlichen Bedingungen erfolgen kann.

16.2.5 Humanpathogene Bunyaviren

Die Hantaviren

Epidemiologie und Übertragung

Die Hantaviren verursachen bei Menschen das *hämorrhagische Fieber mit nephropathischem Syndrom*, auch HFRS (*hemorrhagic fever with renal syndrome*) genannt oder das *Hantavirus-assoziierte cardio-pulmonale Syndrom* (HCPS). Die Infektionen werden fast immer von infizierten Nagetieren auf den Menschen übertragen, nur beim HPS verursachenden, südamerikanischen Andes-Virus wurde die Übertragung der Infektion von Mensch zu Mensch wiederholt nachgewiesen. Meist sind die Übertragungen auf den Kontakt mit durch tierische Exkremente viruskontaminiertem Erdstaub zurückzuführen. Infektionen wurden gelegentlich auch bei Laborpersonal und Tierpflegern gefunden, die in Tierställen beschäftigt oder an Tierexperimenten beteiligt waren.

Der Name Hantavirus leitet sich vom Fluss Hantaan in Korea ab. In diesem Gebiet ereigneten sich um 1950 während des Koreakrieges die ersten erfassten Erkrankungen. Das 1978 identifizierte Hantaanvirus infiziert koreanische Brandmäuse (*Apodemus agrarius corea*) und persistiert in dieser Mausart. Es wird mit dem Speichel, Urin und Kot der Tiere ausgeschieden und so auf Menschen übertragen. Bei den Nagetieren fanden sich Krankheitszeichen nur bei experimenteller Infektion von Hamstern, neugeborenen oder immundefizienten Scid-Mäusen (*severe combined immunodeficiency*) – letztere besitzen weder ein humorales noch ein zelluläres Immunsystem und sterben nach der Infektion mit Hantaanviren an einer Encephalitis. Die Übertragung auf andere Mausarten oder Labortiere erwies sich als schwierig, ebenso die Züchtung des Virus in Zellkulturen. Heute kann man das Hantaanvirus in Vero-E6-Zellen (Nierenzellkulturen von Grünen Meerkatzen) vermehren. Die Infektion verursacht dort keinen ausgeprägten cytopathischen Effekt.

Das Hantaanvirus ist in Asien und Ostrussland verbreitet, gelegentlich werden Infektionen auch in Südeuropa berichtet. Inzwischen sind mehrere Serotypen der



Die Entdeckung des Hantavirus

Die Hantaviren erlangten erstmals während des Koreakrieges in den frühen fünfziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts internationale Aufmerksamkeit: Mehr als 3 000 UN-Soldaten mussten aufgrund des Koreafiebers, das mit Nierenversagen und Schock einherging, stationär behandelt werden, etwa sieben Prozent verstarben. Der für dieses *koreanische hämorrhagische Fieber* (KHF) verantwortliche Infektionserreger blieb bis 1978 unbekannt, als das Hantaanvirus von Ho Wang Lee und Mitarbeitern aus der gestreiften koreanischen Brandmaus (*Apodemus agrarius corea*) isoliert und der Familie der Bunyaviren zugeordnet

wurde. Sie beobachteten, dass Seren von am Koreaieber erkrankten Patienten mit Proteinen in der Lunge der gestreiften koreanischen Feldmaus (*Apodemus agrarius corea*) reagierten. Das Virus ließ sich auf diese Mausart übertragen und verursacht eine *persistierende Infektion*. Das Hantaanvirus und die mit ihm verbundene Erkrankung, das HFRS, waren vermutlich jedoch seit langem in Korea verbreitet. Man schätzt dass heute, verursacht durch die unterschiedlichen Typen der Hantaviren, weltweit jährlich 150 000 Fälle des HFRS auftreten.

Hantaviren bekannt, die mit dem Hantaanvirus verwandt sind. Gemeinsam ist allen, dass sie sich jeweils an eine bestimmte Mausart angepasst haben, in welcher sie persistieren. Diese geographische Verbreitung der unterschiedlichen Wirte bestimmt damit auch das Auftreten der Infektion im Menschen. Übertragungen auf andere, auch auf nah verwandte Mauspezies, erwiesen sich in fast allen Fällen als erfolglos. Die *Puumalaviren* sind in *Skandinavien, Europa* und den *osteuropäischen Staaten* verbreitet. Sie verursachen persistierende Infektionen bei Rötelmäusen (*Clethrionomys glareolus*; engl.: *bank vole*) und werden von ihnen über Speichel, Urin und Kot ausgeschieden. Das Virus ist in damit kontaminierter Erde vorhanden und kann über Staub und Aerosole auf die Schleimhäute des Menschen übertragen werden. Es verursacht die *Nephropathia epidemica* (Niereninsuffizienz mit Proteinurie nach Fieber), eine dem koreanischen hämorrhagischen Fieber ähnelnde Erkrankung, die jedoch weit weniger schwer und ohne hämorrhagische Symptome verläuft. Häufig sind die Infektionen asymptomatisch. Etwa zwei bis vier Prozent der Bevölkerung in Deutschland weisen Antikörper gegen diese Viren auf.

Neben dem Puumalavirus sind in Europa die *Tulaviren* und *Dobravaviren* verbreitet, von letzteren existieren zwei Varianten: Dobrava Aa und Af. Die Tulaviren werden von der Feldmaus (*Microtus arvalis*), die Dobravaviren Aa und Af von Brand- (*Apodemus agrarius*) beziehungsweise Gelbhalsmäusen (*Apodemus flavicollis*) übertragen. Sie rufen gelegentlich schwere Erkrankungen hervor, deren Verläufe denjenigen von Hantaanvirusinfektionen in Südostasien gleichen. Das *Seoulvirus* infiziert verschiedene Rattenarten (► Tabelle 16.3). Es kam ursprünglich in Ostasien vor, heute ist es durch infizierte Ratten auf Schiffen in fast alle Hafenstädte ver-

schleppt worden und somit weltweit verbreitet. Die Infektion verläuft beim Menschen häufig schwer. Man schätzt, dass das Seoul- zusammen mit dem Hantaanvirus in China und Südostasien jährlich etwa 100 000 Fälle von HFRS beim Menschen verursacht.

In den USA und anderen Ländern des amerikanischen Kontinents hat man in vergangenen Jahren weitere Vertreter des Genus Hantavirus isoliert: 1993 trat in einem Reservat der Navajo-Indianer im Südwesten der USA eine schwere Epidemie auf, die mit fulminanten Lungen- und Herzversagen einherging. In den ersten Beschreibungen wurden für dieses Virus verschiedene Namen (Four-Corners-, Sin-Nombre- oder Muerto-Canyon-Virus) verwendet. Inzwischen hat man sich auf die Bezeichnung *Sin-Nombre-Virus* geeinigt. Es wird durch die Ausscheidungen infizierter Mäuse (*Peromyscus maniculatis*) übertragen und verursacht eine sehr schwere Erkrankung des Respirationstraktes mit möglichem Lungen- und Herzversagen – HCPS (*hantavirus cardio-pulmonary syndrome*) genannt. Interessanterweise fanden sich alte Überlieferungen bei den Indianern, die ähnliche Episoden in früheren Zeiten nahe legen, und zwar in Zusammenhang mit klimatisch bedingten Mäuseplagen. Seit der Entdeckung des Sin-Nombre-Virus hat man auf dem amerikanischen Kontinent weitere Serotypen der Hantaviren identifiziert, deren Infektion beim Menschen ebenfalls HCPS hervorruft. Seit der ersten Epidemie wurden etwa 1 000 Fälle dokumentiert, die zu über 50 Prozent tödlich verliefen.

Klinik

Die Hauptsymptome der Hantavirusinfektionen sind Fieber mit und ohne Hämorrhagie, Nephropathie und pulmonales Syndrom. Das hämorrhagische Fieber mit

nephropathischem Syndrom (HFRS) äußert sich abhängig vom Virustyp in unterschiedlicher Schwere. Nur bei etwa einem Drittel der mit Hantaviren Infizierten kommt es zu Hämorrhagien, in den übrigen Fällen verläuft die Erkrankung grippeähnlich mit hohem Fieber und Muskelschmerzen. Die Inkubationszeit beträgt durchschnittlich ein bis zwei Wochen, in seltenen Fällen wurden Zeiträume von über sechs Wochen beschrieben. Die ersten Symptome (hohes Fieber, Frösteln und Muskelschmerzen) setzen plötzlich ein und können mit starken Kopf- und Rückenschmerzen verbunden sein. Diese Phase hält drei bis sieben Tage an. Daran schließen sich in etwa 30 Prozent der Fälle die hämorrhagischen Symptome an, die sich als punktförmige Blutungen (Petechien) in der Augenbindehaut und den Schleimhautbereichen äußern. Es kann auch zu Blutungen im Gastrointestinaltrakt und der Lunge kommen. Diese Patienten entwickeln Thrombocytopenien und in ihrem Urin lassen sich die Erreger sowie Blut und Proteine als Zeichen der Nephropathie nachweisen. Noch während der ersten Krankheitswoche tritt ein Blutdruckabfall ein, der bei bis zu 15 Prozent der Patienten in hypovolämische Schockzustände (Schock nach Blut- oder Flüssigkeitsverlust) übergehen kann, die bei etwa einem Drittel tödlich verlaufen. Mit der Rückentwicklung zu normalen Blutdruckwerten setzt eine etwa drei bis sieben Tage andauernde verminderte Harnproduktion (Oligurie) mit Azotämie ein, die durch direkte und indirekte Beeinträchtigung der Nierenfunktion bedingt ist. In dieser Phase können auch Todesfälle durch Herzversagen, Lungenödeme und Gehirnblutungen auftreten – beispielsweise verursacht durch kapilläre Hämorrhagie und intravasale Gerinnung mit Verbrauchskoagulopathie. Eine verstärkte Urinbildung von drei bis sechs Litern pro Tag zeigt die Überwindung der Erkrankung an (polyurische Phase). Die Rekonvaleszenz bis zur Ausbildung normaler Elektrolytwerte dauert jedoch bis zu drei Monate. Neben der Nephropathie kann bei einigen Virustypen auch die Leberschädigung im Vordergrund stehen. Bei der deutlich milder verlaufenden *Nephropathia epidemica* findet man meist keine hämorrhagischen Symptome und praktisch nie Schockzeichen.

Das Hantavirus-assoziierte pulmonale Syndrom ist anfänglich für drei bis fünf Tage ebenfalls durch Fieber, Muskel- und Kopfschmerzen gekennzeichnet, weist dann aber einen sehr schwerwiegenden klinischen Verlauf auf. Es bildet sich schnell ein ausgeprägtes, radiologisch nachweisbares pulmonales Ödem aus, das durch eine erhöhte Kapillarpermeabilität im Lungenendothel verursacht wird und den Sauerstoffaustausch in der Lunge massiv beeinträchtigt. Die Patienten weisen starke Atemnot (Tachypnoe) und Zeichen der progressiven Hypoxämie auf und müssen daher innerhalb von 24

Stunden künstlich beatmet werden. Infolge dieses ARDS (*acute respiratory distress syndrome*) kommt es auch zum Abfall der Thrombocytenzahl, der mit Gerinnungsproblemen, Verbrauchskoagulopathie und Kreislaufchock bei massiver Rechtsherzbelastung, der mit Blutdruckabfall und Herzkreislaufversagen verbunden ist. Durch diese Kombination von Symptomen, die Lunge, Herz und Kreislauf betreffen, liegt die Letalität bei bis zu 50 Prozent. Die überlebenden Patienten erholen sich allerdings wieder sehr schnell.

Pathogenese

Das Virus wird durch Aerosole auf die Mund-, Nasen- und Rachenschleimhaut übertragen und infiziert im weiteren Verlauf die Endothelzellen und Makrophagen. Dabei bindet es sich an die als Heterodimere vorliegenden Integrine $\alpha_v\beta_3$, die sich auf der Oberfläche der Zielzellen befinden, und verbreitet sich so im Organismus. Bei infizierten Personen lässt sich das Virus vor allem in der Niere, aber durch die virämische Ausbreitung auch in Leber, Milz, Lunge, Herz und Gehirn nachweisen. Das Ausmaß der histopathologischen Veränderungen mit verstreuten Hämorrhagien und Zerstörungen der Nierentubuli und des Nierenmarks ist von der Schwere der Erkrankung abhängig. Im Cytoplasma der Epithelzellen der Nierentubuli findet man virale Glycoproteine. Die Zellzerstörungen mit nekrotischen und apoptotischen Zeichen scheinen teilweise direkt durch die Virusinfektion bedingt zu sein. Die bei pathogenen und nichtpathogenen Virusstämmen unterschiedlich stark ausgeprägte Fähigkeit, die interferonvermittelte, unspezifische Immunabwehr einzuleiten, scheint von den Aminosäuresequenzen in der cytoplasmatischen Domäne der Glycoproteinkomponenten bestimmt zu sein (► Abschnitt 16.2.3). Daneben scheint die Schwere der Erkrankung mit der Zahl von cytotoxischen T-Lymphocyten assoziiert zu sein, die im Infektionsverlauf gebildet werden und die virusinfizierten Zellen erkennen. Bei Sin-Nombre-Virus infizierten Patienten mit schwerer HCPS war die Zahl an CD8⁺-T-Lymphocyten signifikant höher als bei Patienten mit weniger schweren Verläufen. Auch scheint die Schwere der Infektionen mit bestimmten HCLA-Typen verbunden zu sein. Patienten mit den Haplotypen HCLA-B8 und DRB1*0301 entwickeln nach Puumulavirusinfektionen häufiger schwere Formen der Nephropathia epidemica als Träger des HCLA-B27.

Die für die verschiedenen Hantavirustypen empfänglichen, immunologisch ausgereiften Nagetiere etablieren eine *asymptomatische, persistierende Form* der Infektion. Die Tiere entwickeln eine virämische Phase, die über mehrere Monate andauern kann. Während dieser findet

man große Virusmengen im Blut und in verschiedenen Organen. Dabei werden die Viren vor allem im Urin, aber auch im Speichel der Tiere ausgeschieden. Werden neugeborene Mäuse infiziert, so repliziert sich das Virus vor allem in den Endothelzellen der Kapillargefäße der Nieren, Lunge und des Gehirns; die virämische Phase dauert etwa zwei Wochen. In der Folge versterben die Tiere an entzündlichen Läsionen in diesen Geweben. Das Auftreten von Krankheitsanzeichen deutet darauf hin, dass sich die Viren in den immunologisch nicht kompetenten Tieren ungehindert ausbreiten und ihre Cytopathogenität mit direkter Zerstörung der infizierten Zellen entfalten können. Daneben gibt es Hinweise, dass die Zellzerstörungen sekundär sowohl durch TNF als auch durch die zelluläre Immunantwort bedingt sind. Werden die TNF-Rezeptoren der Mäuse durch monoklonale Antikörper blockiert, entstehen keine hämorrhagischen Symptome.

Immunreaktion und Diagnose

Bei jedem ausgesprochenen Verdacht auf virales hämorrhagisches Fieber, die nach dem Infektionsschutzgesetz meldepflichtige Infektionserkrankungen sind, ist über ein dazu ausgewiesenes Zentrum (in Deutschland derzeit in Hamburg, Berlin, Marburg, Leipzig und München) eine entsprechende PCR-Diagnostik, unter Einhaltung aller Sicherheitsmaßnahmen beim Versand, unverzüglich anzustreben. Der Nachweis von viraler RNA mittels RT-PCR ist zur Diagnose der akuten Infektion obligat. *IgM-Antikörper* gegen die N-Proteine lassen sich bei Patienten etwa sieben Tage nach der Infektion, das heißt meist schon mit dem Einsetzen der Symptome, in ELISA-Tests entdecken. Die IgM-Konzentration sinkt nach drei bis sechs Monaten wieder unter die Nachweisgrenze ab. IgG- folgen den IgM-Antikörpern relativ bald und bleiben wahrscheinlich lebenslang erhalten. Auf mögliche Kreuzreaktivitäten ist zu achten. Antikörper gegen die G-Proteine sind virusneutralisierend und hemmen die Adsorption ebenso wie die Fusions- und Hämagglutinationsaktivität. Iatrogen bedingte IgM-Negativität kann ein diagnostisches Problem sein, wenn aus therapeutischen Gründen ein Plasmaaustausch bei den Patienten vorgenommen wird. Kreuzreagierende IgM-Antikörper gegen die G-Proteine unterschiedlicher Serotypen wie Puumala-, Dobrava- und Hantaanvirus finden sich vor allem in der Frühphase der Infektion. Bei unklarer Serologie ist eine Abklärung mittels Western Blot wichtig. Virusspezifische Antikörper und Immunkomplexe werden zeitweise über den Urin der Patienten ausgeschieden. Ihr Auftreten korreliert jedoch nicht mit der Schwere der Infektion. Ob sie für die Pathogenese der Infektion wichtig sind, ist unklar.

Therapie und Prophylaxe

Es gibt bisher keinen zugelassenen Impfstoff. In Korea und China hat man durch Formaldehyd inaktivierte Viruspräparationen aus den Gehirnen infizierter Nagetiere auf ihre Wirksamkeit getestet. Es wurde eine vor HFRS schützende Wirkung gezeigt, allerdings konnte man nur in der Hälfte der Geimpften neutralisierende Antikörper nachweisen. Impfstoffe auf der Basis von inaktivierten Viren, die in Zellkultur gezüchtet wurden, zeigten außer einer geringeren Nebenwirkungsrate eine bessere Induktion der Bildung neutralisierender Antikörper. Bei beiden Vakzinen fiel die Konzentration der neutralisierenden Antikörper jedoch sehr schnell ab, sodass ein lang anhaltender Schutz derzeit sehr fraglich ist.

In einigen Studien wurde Ribavirin zur Therapie des HFRS eingesetzt. Die Therapie zeigte eine Verringerung der Morbidität und Mortalität. Bei HCPS-Patienten konnte diese Wirkung nicht eindeutig bestätigt werden. In Modellsystemen, bei welchen Nagetiere mit Sin-Nombre-Viren infiziert wurden, erwies sich die Behandlung mit Ribavirin, mit antivirale Antikörper enthaltenden Plasmaproben von Probanden mit abgelaufener Infektion oder mit gegen die Integrin- β_3 -Kette gerichteten Antikörpern als erfolgreich. Auch Interferon- β zeigte *in vitro* eine sehr gute Hemmung der Hantavirusreplikation. Ob Interferon- β zur Therapie von schweren HFRS oder HCPS angewandt werden kann, ist allerdings nicht endgültig erprobt. Die beste Vorsorge ist es, den Kontakt mit infizierter Erde oder Staub – beispielsweise durch das Tragen von Masken – zu meiden, was jedoch bei den exponierten Personengruppen (Landarbeitern, Kanal- und Straßenbauern) meist wenig praktikabel ist. Labornagetiere sollten auf persistierende Hantavirusinfektionen hin getestet werden, um so die Gefährdung von Tierpflegern und Mitarbeitern möglichst gering zu halten.

16.2.6 Tier- und humanpathogene Bunyaviren

In jeder Gattung der *Bunyaviridae* – mit Ausnahme der Genera *Tospo-* und *Hantavirus* – finden sich Erreger von Tierkrankheiten. Zum Teil können die Viren durch Insektenstiche oder Zeckenbisse auf andere Tierarten und auch auf den Menschen übertragen werden. Da aufgrund der Verbreitung der Viren Infektionen beim Menschen nur in Ausnahmefällen auftreten, werden diese im Folgenden nur kurz beschrieben. Wegen des zoonotischen Potenzials werden diese Viren tierseuchenrecht-



Infektionen mit dem Crimean-Congo-Hemorrhagic-Fever-Virus nehmen zu

Das Crimean-Congo-Hemorrhagic-Fever-Virus (CCHF-Virus) ist in weiten Bereichen Osteuropas, Asiens und Afrikas verbreitet. Es wird durch Schildzecken der Gattung *Hyalomma* übertragen, die das Virus auf die verschiedenen Entwicklungsstadien der Zecken weitergeben. Dadurch können sich schnell endemisch mit den Viren infizierte Zeckenherde bilden. Unter den Säugetieren infiziert das CCHF-Virus häufig Rinder und Schafe. Diese Tiere bilden auch das Reservoir für die Viren und entwickeln im Infektionsverlauf eine Virämie, die ausreicht, um saugende Zecken die Erreger mit dem Blut aufnehmen zu lassen. Werden Menschen

von infizierten Zecken gebissen oder haben sie direkten Kontakt mit dem infizierten Blut der Tiere (beispielsweise Arbeiter auf Schlachthöfen oder Metzger), dann erkranken sie schwer und entwickeln die Symptome eines hämorrhagischen Fiebers. 20 bis 40 Prozent der Patienten sterben. Bisher gibt es keine Impfstoffe zum Schutz der Menschen und der Tiere. Diesen kommt jedoch eine immer größere Bedeutung zu, weil sich die infizierten Zecken und somit auch die Viren immer weiter auszubreiten scheinen. Tiermedizinisch ist dieses Virus ohne Bedeutung, die Infektionen in Rindern und Schafen verlaufen subklinisch.

lich reglementiert. Auch deshalb stellt die Untersuchung der Bunyaviren hohe Ansprüche an die Sicherheitsausstattung der Labors, die L4-Bedingungen entsprechen müssen.

Von besonderer tiermedizinischer Bedeutung sind das *Rift-Valley-Fieber-Virus* (Riftalfiebervirus) und das *Nairobi-Sheep-Disease-Virus*. Daneben erlangen das *Crimean-Congo-Hemorrhagic-Fever-Virus* (CCHF-Virus) sowie das *Akabanevirus* eine immer größere Bedeutung. Letzteres ist in Australien, Neuseeland, Asien und Afrika verbreitet. Infektionen mit dem *Akabanevirus* verursachen bei Wiederkäuern (Rinder, Schafe, Ziegen) Missbildungen der Feten, etwa Microencephalie oder Arthrogrypose. Werden die Tiere nach der Geburt infiziert, dann zeigen sie, wie auch die infizierten Muttertiere, keinerlei Symptome; Erkrankungen des Menschen wurden bisher nie beobachtet. Das *Akabanevirus* wird durch Mücken der Gattungen *Culicoides*, *Culex* und *Aedes* übertragen. Eine Vakzine auf der Basis von abgetöteten Viren ist verfügbar und wird in den Endemiegebieten eingesetzt.

Das CCHF-Virus, ein Nairovirus, kann durch infizierte Hyalomma-Zecken von erkrankten Tieren auf Menschen übertragen werden und ein schweres virales hämorrhagisches Fieber (VHF) auslösen. Das Verbreitungsgebiet des CCHF-Virus erstreckt sich von China bis Zentralasien, dem Mittleren Osten bis hin nach Osteuropa und Afrika. Da das Virus auch von erkrankten Menschen direkt weitergegeben wird, ist es von reisemedizinischer Bedeutung.

Das *La Crosse-Virus* ist ein Vertreter aus der Gruppe der California-Encephalitis-Viren. Es ist in den USA die häufigste Ursache einer viralen Encephalitis im Kindesalter, die mit neuronalen Folgeerscheinungen (Lähmungen) verbunden sein kann. Das Virus wird durch

Mücken (*Aedes triseriatus*) übertragen. Die infizierten Mücken können die Viren vertikal über die Eier auf die Folgegeneration weitergeben. In Mückenlarven, die während der Diapause (Überwinterungsphase) mit unterschiedlichen Bunyaviren infiziert sind, bilden sich bevorzugt Reassortanten. Nager – wie zum Beispiel Eichhörnchen oder Streifenhörnchen (engl.: *chipmunk*) – stellen das Reservoir dar. Eine ähnliche Rolle spielt in anderen Regionen Nordamerikas das *Snowshoe-Hare-Virus*. Beide Viren sind tiermedizinisch ohne Bedeutung.

Das Rift-Valley-Fieber-Virus

Epidemiologie und Übertragung

Das Rift-Valley-Fieber-Virus ist nach einer Region im Osten Afrikas benannt, in der es erstmals aus erkrankten Rindern isoliert wurde. Es ist jedoch auf dem ganzen afrikanischen Kontinent verbreitet und ein wichtiger Erreger von Erkrankungen bei Wiederkäuern. Außerhalb Afrikas wurde das Virus bisher nicht gefunden. Seine besondere Bedeutung liegt in seinem zoonotischen Potenzial. Hochempfindlich sind Schafe sowie Rinder und Ziegen. Jungtiere sind dabei besonders empfindlich. Der Mensch gilt als moderat empfänglich und Infektionen verlaufen zu etwa zehn Prozent tödlich. Das Rift-Valley-Fieber-Virus wird durch eine Vielzahl von Stechmückenarten der Gattungen *Aedes* und *Culex* übertragen. Innerhalb der Population von *Aedes* spp. bleibt das Virus durch transovarielle Übertragung als Reservoir erhalten. Insbesondere *Aedes*-Mücken, die ihre Eier in feuchten Boden und nicht in Wasser ablegen, spielen für die Ausbrüche eine wichtige Rolle. Die Eier können in trockenem Boden jahrelang überdauern, und

die Larven auch nach einem schweren Regenfall schlüpfen. Unter entsprechenden klimatischen Voraussetzungen kann es zur massenhaften Vermehrung der Insekten und somit auch zu einer effizienten Verbreitung und zum Auftreten von Epidemien kommen, während derer dann auch Krankheitsfälle beim Menschen auftreten; so kam es beispielsweise 1978 zu etwa 200 000 Erkrankungen in Ägypten. Klimatische Veränderungen in Süd- und Mitteleuropa können, zusammen mit der Ansiedelung von entsprechenden Mückenarten, zur Verbreitung der Rift-Valley-Fieber-Viren auch in gemäßigten Zonen beitragen – ein Szenario, das während der letzten Jahre immer wieder diskutiert wurde. Außer den Mücken stellen wilde und domestizierte Wiederkäuer ein weiteres Reservoir dar; sie werden in *endemischen Zyklen* infiziert und sind dabei mehrere Tage virämisch. Die Viren liegen im Blut in ausreichend hohen Konzentrationen vor, um saugende Stechmücken zu infizieren. Wichtig ist, dass die Übertragung des Virus nicht unbedingt an Stechmücken gebunden ist: Gewebe von verendeten Tieren oder kontaminierte Einstreu in den Ställen können ausreichende Virusmengen enthalten, um die Erreger auf Tiere und Menschen zu übertragen.

Klinik

Nach einer Inkubationszeit von wenigen Stunden bis hin zu Tagen, je nach Empfänglichkeit der Tierart, entwickeln die Tiere eine systemische Infektion, bei der vor allem *gastrointestinale Symptome* mit Erbrechen und Durchfall auftreten. Sie sind mit einer Leberentzündung (infektiöse Hepatitis) verbunden. Im weiteren Verlauf kommt es zum seuchenhaften Verlammen oder Verkälben innerhalb einer mit dem Rift-Valley-Fieber-Virus infizierten Herde. Bis zu 100 Prozent der trächtigen Schafe oder Rinder zeigen Aborte. Dieses Symptom ist auch unter dem Begriff *abortion storms* bekannt.

Im Menschen verlaufen die meisten Infektionen subklinisch, es werden aber regelmäßig, wenn auch selten, schwere und tödliche Erkrankungen beobachtet; die Mortalität beträgt fünf bis zehn Prozent. Die Symptome ähneln denen einer Grippe. Nach einer kurzen Inkubationszeit von zwei bis sechs Tagen kommt es zu Fieber, starken Kopf-, Augen- und generalisierten Muskelschmerzen, sowie Lichtscheue. Als Komplikationen sind eine milde Enzephalitis, Retinitis oder hämorrhagisches Fieber mit Hepatitis bekannt.

Pathogenese

Die Viren gelangen mit den Speicheldrüsensekreten der Stechmücken in die Blutbahn und infizieren hier die Monocyten und Makrophagen, welche sie zu den Lymph-

knoten transportieren. Durch die Infektion weiterer Zellen kommt es zur Verbreitung des Virus im Rahmen einer ersten Virämie. Hierdurch gelangt es zu seinen Zielorganen wie der Leber, dem zentralen Nervensystem und – bei trächtigen Tieren – dem Fetus und vermehrt sich dort lytisch. Unter geeigneten Kulturbedingungen sind die Polymerasekomplexe der Toscana- und der Rift-Valley-Fieber-Viren in der Lage, die gegenseitige Transkription und Replikation der Genomsegmente zu bewirken. Weil auch die Verbreitungsgebiete dieser beiden Phlebovirustypen überlappen, ist eine Reassortantbildung zumindest theoretisch möglich.

Immunreaktion und Diagnose

Tiere, welche die Infektion mit dem Rift-Valley-Fieber-Viren überleben, haben eine lang andauernde, schützende Immunität. Die Diagnose kann durch die Züchtung des Virus in Verozellen, durch den Nachweis viraler Proteine in den infizierten Geweben (lymphatische Gewebe, Leber, Fetus) oder durch Amplifikation der Virusgenome mittels der Polymerasekettenreaktion gestellt werden. Serologisch ist der Nachweis der Infektion durch Untersuchung von in zeitlichem Abstand abgenommenen Serumpaaren im Neutralisationstest, oder ELISA möglich. Für die Diagnostik beim Menschen gilt ähnliches, die akute Infektion wird jedoch mittels der RT-PCR nachgewiesen.

Bekämpfung und Prophylaxe

Verschiedene *attenuierte Lebend-* oder *Totimpfstoffe* sind beim Tier verfügbar. Veränderungen im NSs-Gen führen zum Verlust der Antiinterferonwirkung des NSs-Proteins. Solche Virusmutanten induzieren große Mengen an Interferon in infizierten Tieren und sind hochgradig attenuiert. Die Bekämpfung erfolgt in Form von Impfprogrammen vor der Flugzeit der Stechmücken sowie durch deren Bekämpfung durch Trockenlegung der Brutstätten und Einsatz von DDT zur Abtötung der Insektenlarven. Ein zur Anwendung im Menschen zugelassener Impfstoff existiert nicht, ebenso gibt es keine antivirale Therapie. In Deutschland sind Infektionen mit dem Rift-Valley-Fieber-Virus zwar meldepflichtig, jedoch bisher nicht aufgetreten.

Das Nairobi-Sheep-Disease-Virus

Epidemiologie und Übertragung

Das *Dugbe-* oder *Nairobi-Sheep-Disease-Virus* ist in Ostafrika verbreitet, es verursacht bei kleinen Wiederkäuern, also Schafen und Ziegen, schwere hämorrhagi-

sche Enteritiden. Neben den Endemiegebieten in Ostafrika sind einige sporadische Fälle der Nairobi-Sheep-Disease in Indien und Ceylon aufgetreten. Das Virus wird überwiegend durch die braune Zecke (*Rhipicephalus appendiculatus*) übertragen. In ihr kann das Virus über Jahre persistieren und wird auf die verschiedenen Entwicklungsstadien übertragen. Gelegentlich beobachtete Laborinfektionen des Menschen waren mit milder und transientser grippeähnlicher Symptomatik verbunden.

Klinik

Das Nairobi-Sheep-Disease-Virus verursacht bei Schafen und Ziegen schwere systemische Infektionen, deren Hauptsymptom eine hämorrhagische Enteritis mit Durchfall ist. Tragende Schafe abortieren häufig. Bis zu 90 Prozent der infizierten Tiere sterben.

Pathogenese

Es gibt wenige Daten zur Pathogenese dieser von Zecken übertragenen Infektionserkrankung der Schafe und Ziegen.

Immunreaktion und Diagnose

Die Diagnosestellung erfolgt überwiegend durch die Isolierung der Erreger aus der Milz, der Lunge und den Darmlymphknoten und der Anzucht auf Zellkulturebene. Virale Proteine kann man in der Immunfluoreszenz nachweisen.

Bekämpfung und Prophylaxe

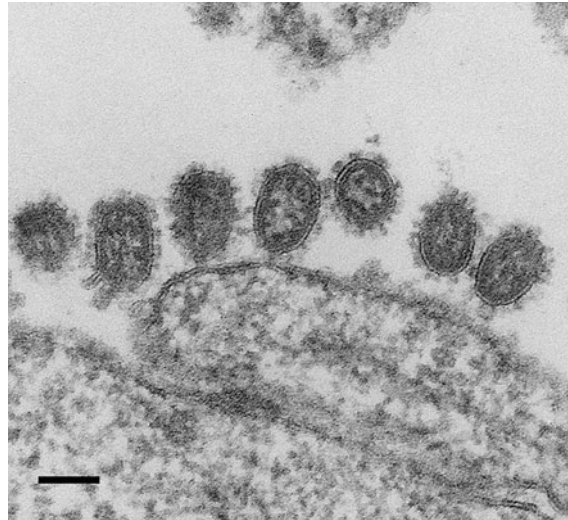
Sowohl eine Lebendvakzine auf der Basis attenuierter Viren, die nicht auf Zecken übertragen werden, sowie ein Totimpfstoff aus inaktivierten Erregern sind verfügbar und wirksam.

16.2.7 Weiterführende Literatur

- Accardi, L.; Prehaud, C.; Di Bonito, P.; Mochi, S.; Bouloy, M.; Giorgi, C. *Activity of Toscana and Rift Valley fever virus transcription complexes and heterologous templates*. In: *J. Gen. Virol.* 82 (2001) S. 781–785.
- Afff, P. J.; Gavrilovskaya, I. N.; Gorbunova, E.; Endriss, K.; Chong, Y.; Geimonen, E.; Sen, N.; Reich, N.C.; Mackow, E. R. *The pathogenic NY-1 hantavirus G1 cytoplasmic tail inhibits RIG-I- and TBK-1-directed interferon responses*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 9676–9686.
- Bird, B.; Albarino, C. G.; Hartman, A. L.; Erickson, B. R.; Ksiazek, T. G.; Nichol, S. T. *Rift Valley Fever Virus Lacking the NSs and NSm Genes Is Highly Attenuated, Confers Protective Immunity from Virulent Virus Challenge, and Allows for Differential Identification of Infected and Vaccinated Animals*. In: *J. Virol.* 82 (2008) S. 2681–2691.
- Blakqori, G.; Weber, F. *Efficient cDNA-based rescue of La Crosse bunyaviruses expressing or lacking the nonstructural protein NSs*. In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 10420–10428.
- Billecocq, A.; Spiegel, M.; Vialat, P.; Kohl, A.; Weber, F.; Bouloy, M.; Haller, O. *NSs protein of Rift Valley fever virus blocks interferon production by inhibiting host gene transcription*. In: *J. Virol.* 78 (2004) S. 9798–9806.
- Bouloy, M.; Janzen, C.; Vialat, P.; Khun, H.; Pavlovic, J.; Huerre, M.; Haller, O. *Genetic evidence for an interferon-antagonistic function of Rift Valley Fever virus nonstructural protein NSs*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 1371–1377.
- Deyde, V. M.; Rizvanov, A. A.; Chase, J.; Otteson, E. W.; St Jeor, S. C. *Interactions and trafficking of Andes and Sin Nombre Hantavirus glycoproteins G1 and G2*. In: *Virology* 331 (2005) S. 307–315.
- Castillo, C., Nicklas, C., Mardones, J., Ossa, G. *Andes Hantavirus as possible cause of disease in travellers to South America*. In: *Travel Med. Infect. Dis.* 5 (2007) S. 30–34.
- Fontana, J.; López-Montero, N.; Elliott, R. M.; Fernández, J. J.; Risco C. *The unique architecture of Bunyamwera virus factories around the Golgi complex*. In: *Cell Microbiol.* 10 (2008) S. 2012–2028.
- Honig, J. E.; Osborne, J. C.; Nichol, S. T. *Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome L RNA segment and encoded protein*. In: *Virology* 321 (2004) S. 29–35.
- Ikegami, T.; Won, S.; Peters, C. J.; Makino, S. *Rescue of infectious rift valley fever virus entirely from cDNA, analysis of virus lacking the NSs gene, and expression of a foreign gene*. In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 2933–2940.
- Kaukinen, P.; Vaheri, A.; Plyusnin, A. *Hantavirus nucleocapsid protein: a multifunctional molecule with both housekeeping and ambassadorial duties*. In: *Arch. Virol.* 150 (2005) S. 1693–1713.
- Khaiboullina, S. F.; Rizvanov, A. A.; Deyde, V. M.; St Jeor, S. C. *Andes virus stimulates interferon-inducible MxA protein expression in endothelial cells*. In: *J. Med. Virol.* 75 (2005) S. 267–275.
- Kochs, G.; Janzen, C.; Hohenberg, H.; Haller, O. *Antivirally active MxA protein sequesters La Crosse virus nucleocapsid protein into perinuclear complexes*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (2002) S. 3153–3158.
- Kohl, A.; Lowen, A. C.; Leonard, V. H.; Elliott, R.M. *Genetic elements regulating packaging of the Bunyamwera orthobunyavirus genome*. In: *J. Gen. Virol.* 87 (2006) S. 177–187.
- Kukkonen, S. K.; Vaheri, A.; Plyusnin, A. *L protein, the RNA-dependent RNA polymerase of hantaviruses*. In: *Arch. Virol.* 150 (2005) S. 533–556.
- Maes, P.; Clement, J.; Gavrilovskaya, I.; Van Ranst, M. *Hantaviruses: immunology, treatment, and prevention*. In: *Viral Immunol.* 17 (2004) S. 481–497.
- Martinez, V. P.; Bellomo, C.; San Juan, J.; Pinna, D.; Forlenza, R.; Elder, M.; Padula, P. J. *Person-to-person transmission of Andes virus*. In: *Emerg. Infect. Dis.* 11 (2005) S. 1848–1853.

- Matsuoka, Y.; Chen, S. Y.; Compans, R. W. *A signal for golgi retention in the bunyavirus G1 glycoprotein.* In: *J. Bio. Chem.* 269 (1994) S. 22565–22573.
- Meyer, B. J.; Schmaljohn, C. S. *Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms.* In: *Trends in Microbiol.* 8 (2000) S. 61–67.
- Medina, R.A.; Mirowsky-Garcia, K.; Hutt, J.; Hjelle, B. *Ribavirin, human convalescent plasma and anti-beta3 integrin antibody inhibit infection by Sin Nombre virus in the deer mouse model.* In: *J. Gen. Virol.* 88 (2007) S. 493–505.
- Mir, M.A.; Panganiban, A.T. *Characterization of the RNA chaperone activity of hantavirus nucleocapsid protein.* In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 6276–6285.
- Mir, M. A.; Duran, W.A.; Hjelle, B. L.; Ye, C.; Panganiban, A. T. *Storage of cellular 5' mRNA caps in P bodies for viral capsid snatching.* In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105 (2008) S. 19294–19299.
- Mir, M. A.; Panganiban, A. T. *A protein that replaces the entire cellular eIF4F complex.* In: *EMBO J.* 27 (2008) S. 3129–3139.
- Mou, D. L.; Wang, Y. P.; Huang, C. X.; Li, G. Y.; Pan, L.; Yang, W. S.; Bai, X. F. *Cellular entry of Hantaan virus A9 strain: specific interactions with beta3 integrins and a novel 70kDa protein.* In: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 339 (2006) S. 611–617.
- Nichol, S. T.; Spiropoulou, C. F.; Morzunov, S.; Rollin, P. E.; Ksiazek, T. G.; Feldmann, H.; Sanchez, A.; Childs, J.; Zaki, S.; Peters, C. J. *Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness.* In: *Science* 262 (1993) S. 914–917.
- Shi, X.; Kohl A.; Leonard, V. H.; Li P.; McLees, A.; Elliott, R. M. *Requirement of the N-terminal region of orthobunyavirus nonstructural protein NSm for virus assembly and morphogenesis.* In: *J. Virol.* 80 (2006) S. 8089–8099.
- Soldan, S. S.; Plassmeyer, M. L.; Matukonis, M. K.; Gonzalez-Scarano, F. *La Crosse virus nonstructural protein NSs counteracts the effects of short interfering RNA.* In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 234–244.
- Spiropoulou, C. F.; Morzunov, S.; Feldmann, H.; Sanchez, A.; Peters, C. J.; Nichol, S. T. *Genome structure and variability of a virus causing hantavirus pulmonary syndrome.* In: *Virology* 200 (1994) S. 715–723.
- Swanepoel, R.; Coetzer, J. A. W. *Rift Valley Fever.* In: Coetzer, J. A. W.; Thomson, G. R.; Tustin, R. C. (Hrsg.) *Infectious Diseases of Livestock with special reference to Southern Africa.* Oxford (Oxford University Press) 1994, S. 688–717.
- Weber, F.; Bridgen, A.; Fazakerley, J. K.; Streitenfeld, H.; Kessler, N.; Randall, R. E.; Elliott, R. M. *Bunyamwera bunyavirus nonstructural protein NSs counteracts the induction of alpha/beta interferon.* In: *J. Virol.* 76 (2002) S. 7949–7955.
- Weber, F.; Dunn, E. F.; Bridgen, A.; Elliott, R. M. *The Bunyamwera virus nonstructural protein NSs inhibits viral RNA synthesis in a minireplicon system.* In: *Virology* 281 (2001) S. 67–74.
- Zöller, L.; Faulda, M.; Meisl, H.; Ruh, B.; Kimmig, P.; Schelling, U.; Zeier, M.; Kulzer, P.; Becker, C.; Roggendorf, M.; Bautz, E. K. F.; Krüger, D. H.; Darai, G. *Seroprevalence of hantavirus antibodies in germany as determined by a new recombinant enzyme immunoassay.* In: *Eur. J. Clin. Microbiol.* 14 (1995) S. 305–313.

16.3 Orthomyxoviren



Die bekanntesten Vertreter dieser Virusfamilie sind die verschiedenen Typen der Influenza-A-Viren, die beim Menschen die *klassische Virusgrippe* verursachen. Den ersten Hinweis darauf, dass es sich bei den Erregern der Schweineinfluenza um Viren handelt, lieferten die 1931 veröffentlichten Ergebnisse von Richard Shope: Er fand heraus, dass diese Tierseuche durch filterbare Agenzien ausgelöst wird. 1933 isolierten Wilson Smith, Christopher Andrewes und Patrick Laidlaw erstmals *Influenza-A-Viren* aus Menschen. Influenza-B-Viren wurden 1940 von Thomas Francis beschrieben, und 1955 zeigte Werner Schäfer in Tübingen, dass auch eine tödliche Erkrankung des Geflügels durch Influenzaviren verursacht wird (klassische Geflügelpest). Alle diese Viren gehören zur Familie der *Orthomyxoviridae*. Sie sind durch ein segmentiertes RNA-Genom in *Negativstrangorientierung* gekennzeichnet.

Insbesondere Influenza-A-Viren sind als Erreger von akuten, hochfieberhaften Erkrankungen der Atemwege bekannt, die nicht mit dem banalen grippalen Infekt zu verwechseln sind. Die Influenza oder Grippe tritt periodisch als Pandemie auf, die meist in Südostasien und China ihren Ursprung nimmt und sich von dort weltweit ausbreitet. Influenzapandemien sind mit einer hohen Zahl von Todesfällen nicht nur bei älteren Personen, sondern auch bei Jugendlichen verbunden. Die „Spanische Grippe“ forderte in den Jahren 1918/1919 weit über 20 Millionen Todesopfer – deutlich mehr, als durch den zeitgleich wütenden Ersten Weltkrieg zu beklagen waren. Außerdem ruft das Influenzavirus durch den Vorgang des *antigenic drift* nachfolgende Epidemien kleineren Ausmaßes hervor, die vor allem während des Winter-

halbjahrs auftreten. Man schätzt, dass Influenza-A-Virusinfektionen im Rahmen dieser „normalen“ saisonalen Winterepidemien in Deutschland jährlich zwischen 5 000 und 15 000 Todesfälle verursachen.

16.3.1 Einteilung und charakteristische Vertreter

Aufgrund verschiedener molekularer Eigenschaften und der serologischen Charakteristika ihrer NP- und M-Proteine unterscheidet man *Influenzaviren der Typen A, B und C*. Sie werden heute drei unterschiedlichen Gattungen zugeordnet (► Tabelle 16.6). Influenza-A- und -B-Viren verfügen jeweils über acht Genomsegmente, unterscheiden sich aber in etlichen Eigenschaften. Influenza-C-Viren besitzen nicht nur eine andere Anzahl von Genomsegmenten (sieben), sondern auch andere Oberflächenproteine: Influenza-A- und -B-Viren codieren für je ein *Hämagglutinin (HA)* und eine *Neuraminidase (NA)*, Influenza-C-Viren vereinigen beide Eigenschaften in einem Oberflächenprotein, dem *Hämagglutinin-Esterase-Fusionsprotein (HEF)*. Während Influenza-A-Viren außer dem Menschen noch viele andere Säugetiere und Vögel infizieren können, wurden Influenza-B-Viren bisher nur aus Menschen und Robben, Influenza-C-Viren nur aus Menschen und Schweinen isoliert. Weitere Vertreter der Orthomyxoviren sind die Thogoto- und Dhoriviren, die in Afrika, Asien und Südeuropa verbreitet sind und durch Zecken übertragen werden. Sie bilden eine eigene Gattung (Thogotovirus), verfügen über sechs Genomsegmente und führen zu fiebrigen Erkrankungen mit Aborten bei Tieren (Schafe, Rinder, Ziegen) und zu neurologischen Symptomen beim Menschen. Das Virus der infektiösen Anämie der Lachse (Infectious-Salmon-Anemia-Virus) wurde jüngst in das neu geschaffene Genus *Isavirus* eingeordnet. Ein gemeinsames Merkmal aller bisher untersuchten Orthomyxoviren ist, dass sie durch die interferoninduzierten Mx-Proteine in ihrer Vermehrung gehemmt werden (► Exkurs Angeborene Abwehr gegen Influenzaviren).

16.3.2 Aufbau

Viruspartikel

Die Viruspartikel der Orthomyxoviren sind pleomorph, das heißt, sie sind hinsichtlich ihrer Größe und Form stark unterschiedlich. Man findet hauptsächlich *sphärische* Formen mit einem Durchmesser von etwa 120 nm, aber auch filamentöse Virionen. Sie bestehen aus segmentierten Nucleocapsiden, die von einer *Hüllmembran* umgeben sind (► Abbildung 16.6). In diese sind viruscodierte, glycosylierte Oberflächenproteine (*spikes*) eingelagert: Bei den Influenza-A- und -B-Viren handelt es sich um das *Hämagglutinin (HA)*, das etwa sieben bis acht Nanometer aus der Partikeloberfläche herausragt und als *trimerer Komplex* vorliegt, sowie um die *Neuraminidase (NA)*, deren aktive Form durch ein *Homotetramer* repräsentiert wird. Das HA-Protein ist für die Adsorption der Viren an *N-Acetyl-Neuraminsäuren* auf der Oberfläche der Wirtszellen verantwortlich. Daneben kann es Membranen fusionieren und Erythrocyten agglutinieren. Das NA-Protein spaltet endständige *N-Acetyl-Neuraminsäuren* von komplexen Kohlenhydraten ab, sodass die Freisetzung der neusynthetisierten Viruspartikel gewährleistet werden kann. Influenza-C-Viren besitzen statt der HA- und NA-Proteine nur einen Typ von Oberflächenproteinen, nämlich das als trimerer Komplex vorliegende *HEF-Protein*. Zusätzlich findet man bei allen Influenza-A-Viren ein weiteres, als Tetramer vorliegendes kleines *Protein M2* in einer geringen Kopienzahl von etwa 20 bis 60 Molekülen in der Membran verankert, das die Funktion eines Protonenkanals besitzt. Das *Matrixprotein M1* ist mit der Innenseite der Lipiddoppelschicht assoziiert und kleidet diese aus.

Die Hüllmembran umgibt die viralen *Nucleocapside*. Diese setzen sich bei Influenza-A- und -B-Viren sowie beim Virus der infektiösen Anämie der Lachse aus *acht Segmenten* einzelsträngiger RNA zusammen, beim Influenza-C-Virus aus *sieben*. Die Nucleinsäuresegmente sind über ihre gesamte Länge mit den *Nucleoproteinen NP* komplexiert. Zusätzlich sind an jedem Ab-

Tabelle 16.6 Charakteristische Vertreter der Orthomyxoviren

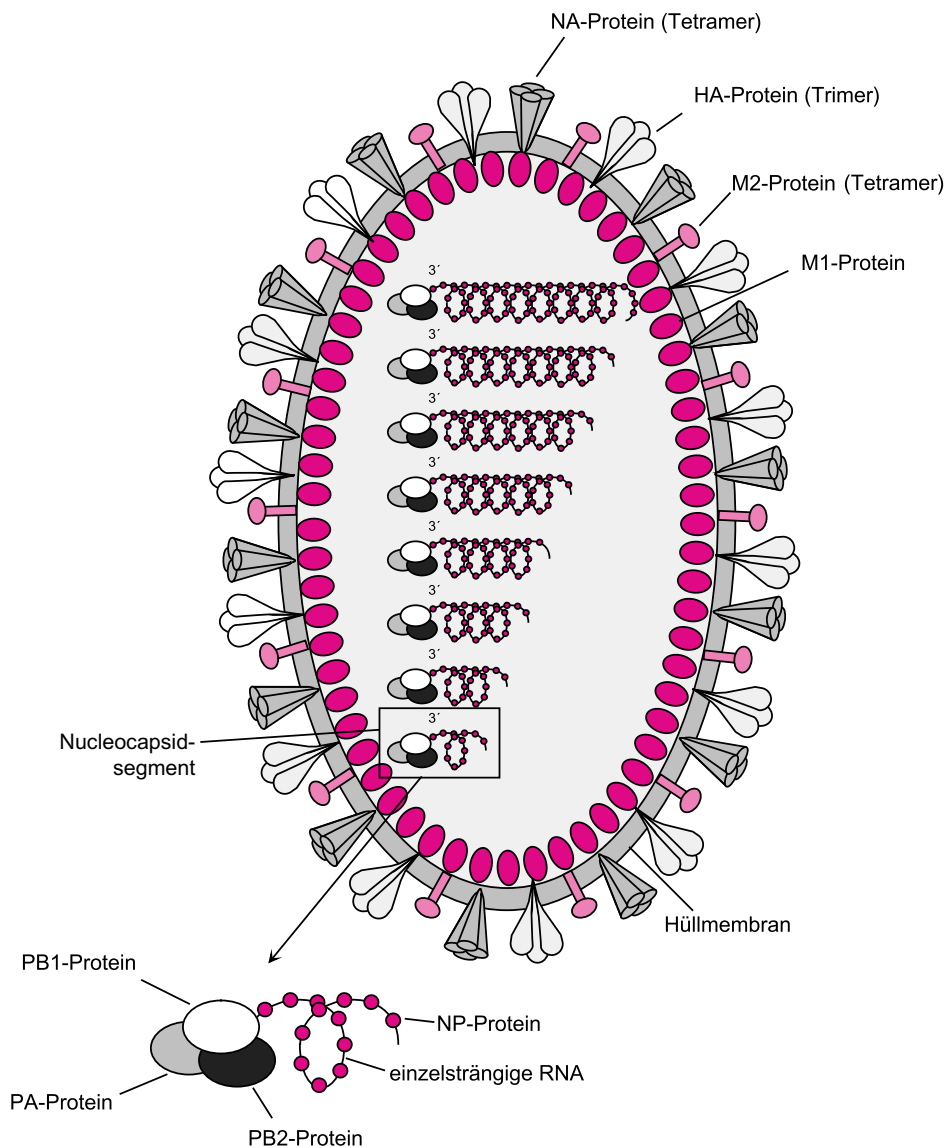
Genus	Mensch	Tier
Influenza-A-Virus	Influenza-A-Viren	Influenza-A-Viren (Schweine, Pferde, Robben, Puten, Enten, Möwen etc.)
Influenza-B-Virus	Influenza-B-Viren	Influenza-B-Viren (Robben)
Influenza-C-Virus	Influenza-C-Viren	Influenza-C-Viren (Schwein)
Thogotovirus		Thogotovirus, Dhorivirus (Zecken, Rinder, Schafe, Ziegen, Nagetiere)
Isavirus		Virus der infektiösen Anämie der Lachse (Infectious-Salmon-Anemia-Virus)

schnitt die Proteine des *Polymerasekomplexes*, *PB1*, *PB2* und *PA*, gebunden (► Abbildung 16.6).

Genom und Genomaufbau

Das segmentierte RNA-Genom der Influenza-A-, -B- und -C-Viren umfasst insgesamt etwa 13 600, 14 600 beziehungsweise 12 900 Basen (► Tabelle 16.7). Die 3'- und 5'-Enden der einzelnen Segmente sind über kurze Bereiche zueinander komplementär und bilden Dop-

pelstränge aus, über welche die RNA-Moleküle in einer *quasizirkulären, pfannenstielähnlichen Form* gehalten werden. Sie codieren nicht für Proteine, sondern stellen die Signalsequenzen für die Initiation der Transkription und der RNA-Replikation dar. Mit der einzelsträngigen RNA sind die basischen, argininreichen *NP-Proteine* assoziiert, wobei jedes NP-Molekül einen Abschnitt von etwa 20 Nucleotiden abdeckt. Als weitere Proteine, die mit den RNA-Abschnitten verbunden sind, finden sich pro Partikel etwa 50 *Polymerasekomplexe*. Sie beste-



16.6 Aufbau eines Partikels des Influenza-A-Virus. Das einzelsträngige RNA-Genom besteht aus acht Segmenten, die mit den NP-Proteinen komplexiert sind. Die Proteine des Polymerasekomplexes, PB1, PB2 und PA, sind mit den 3'-Enden verbunden. Die Nucleocapsidsegmente sind von einer Hüllmembran umgeben, in welche die Oberflächenproteine HA, NA und M2 eingelagert sind. Das M1-Protein befindet sich an der Innenseite der Membran, wo es eine Proteinschicht ausbildet.

Tabelle 16.7 Die RNA-Genomsegmente der Influenzaviren und die Proteine, für die sie codieren

Segment	Influenza-A-Virus*		Influenza-B-Virus		Influenza-C-Virus	
	Länge (Basen)	Protein	Länge (Basen)	Protein	Länge (Basen)	Protein
1	2 341	PB2	2 386	PB1	2 350	P1
2	2 341	PB1, PB1-F2, PB1 A/40	2 396	PB2	2 350	P2
3	2 233	PA	2 304	PA	2 150	P3
4	1 778	HA	1 882	HA	2 000	HEF
5	1 565	NP	1 841	NP	1 750	NP
6	1 413	NA	1 557	NA, NB	1 150	M1, CM2
7	1 027	M1, (A/)M2	1 191	M1, BM2	975	NS1, NS2
8	890	NS1, NS2	1 096	NS1, NS2	-	-

* Influenza-A-Virus Stamm A/PR/8/34

hen aus den Proteinen PB1, PB2 und PA und sind bevorzugt mit den 3'-Enden der Genomsegmente assoziiert.

Jedes Segment des Influenzavirusgenoms codiert für bestimmte Virusproteine, meist eines pro Abschnitt. Nur die beiden kleinen RNA-Segmente der Influenza-A- und -C-Viren sowie die Segmente sechs, sieben und acht der Influenza-B-Viren codieren für zwei Polypeptide, deren Translation von *unterschiedlich gespleißten mRNA-Spezies* ausgeht (► Tabelle 16.7).

16.3.3 Virusproteine

Strukturproteine

Membranproteine Das *Hämaggglutinin (HA)* ist ein trimere Proteinkomplex. Vergleiche der Aminosäuresequenzen verschiedener Influenza-A- und -B-Viren lassen vermuten, dass diese sehr nahe miteinander verwandt sind und ihre HA-Proteine einen ähnlichen Aufbau besitzen. In der Gruppe der Influenza-A-Viren konnten bis heute 16 verschiedene Varianten des HA-Proteins (H1 bis H16) identifiziert werden, die auch die Virussubtypen bestimmen (► Tabelle 16.8). Die Variante H16 wurde erstmals im Frühjahr 2005 beschrieben, sie wurde in Schwarzkopfmöven in Schweden entdeckt. Die 16 HA-Varianten unterscheiden sich in ihrer Aminosäuresequenz, in ihrer Spaltbarkeit durch zelluläre Proteasen, in ihrer Rezeptorspezifität und in der Erkennung durch Antikörper.

Das Vorläuferprotein HA₀ hat eine Länge von etwa 560 Aminosäuren und besitzt am aminoterminalen Ende ein Signalpeptid und nahe dem Carboxyterminus

einen Abschnitt hydrophober Aminosäuren, die das Protein in der Cytoplasmamembran der infizierten Zelle beziehungsweise der Virusmembran verankern. Drei Cysteinreste im Bereich dieser Transmembranregion sind *palmitoyliert*. Dies dient der festen Verankerung des HA-Trimers in Membranmikrodomänen, den sogenannten *lipid rafts*, die reich an Glycosphingolipiden und Cholesterin sind. Diese sehr feste Verankerung scheint für die erfolgreiche Fusion von Virus- und Endosomenmembran zu Beginn des Infektionszyklus wichtig zu sein. Im Verlauf der Translation wird die wachsende Aminosäurekette des HA₀-Vorläuferproteins durch die Membran des endoplasmatischen Reticulums geschleust und dabei das Signalpeptid vom aminoterminalen Ende cotranslational abgespalten. Während des Transports durch den Golgi-Apparat zur Zelloberfläche assemblieren die HA₀-Proteine zu *Trimeren* und werden durch Anfügen von *Zuckergruppen* posttranslational modifiziert. Im Bereich der Transmembranregion am carboxyterminalen Ende werden Palmitinsäurereste angehängt. Intrazelluläre und extrazelluläre *trypsinähnliche Proteasen* spalten das HA₀-Vorläuferprotein in den *aminoterminalen Anteil HA₁* (36 kD, in modifizierter Form circa 50 kD) und *HA₂* (26 kD). Dabei wird ein Argininrest an der Spaltstelle vom Carboxylende des entstehenden HA₁ entfernt. Die Spaltung ist für die Infektiosität der Viren unbedingt notwendig und stellt gleichzeitig einen wichtigen Pathogenitätsfaktor dar. Zu den Proteasen, die an diesem Vorgang beteiligt sind, zählen:

1. die *Furinprotease* der Golgi-Vesikel,
2. die *subtilisinähnlichen Proteasen*, die in den Zellen vieler Gewebetypen vorkommen. Sie sind unter anderem auch an der posttranslationalen Prozessie-

Tabelle 16.8 Verbreitung der verschiedenen Subtypen des Hämagglutinins bei Säugern und Vögeln

HA-Subtyp	Verbreitung						
	Menschen	Schweine	Pferde	Hunde	Wasservögel (Wildenten)	Seevögel (Möven etc.)	Wirtschaftsgeflügel (Hühner, Gänse etc.)
H1	++	++			+	+	++
H2	+	+			+	+	+
H3	++	+	++	+/-	++		+
H4					++	+	+
H5	+/-*				+	+	++
H6					++	+	+
H7	+/-*		+		+	+	++
H8					+		+
H9	+/-*	+/-			+	++	++
H10					+	+	+
H11					+	+	+
H12					+	+	
H13						++	+
H14					+		
H15					+	+	
H16						+	

+/- : selten; +: regelmäßig; ++: häufig

*: Vereinzelte Übertragungen von Geflügelinfluzaviren auf Menschen

nung von Hormonen und Wachstumsfaktorrezeptoren beteiligt,

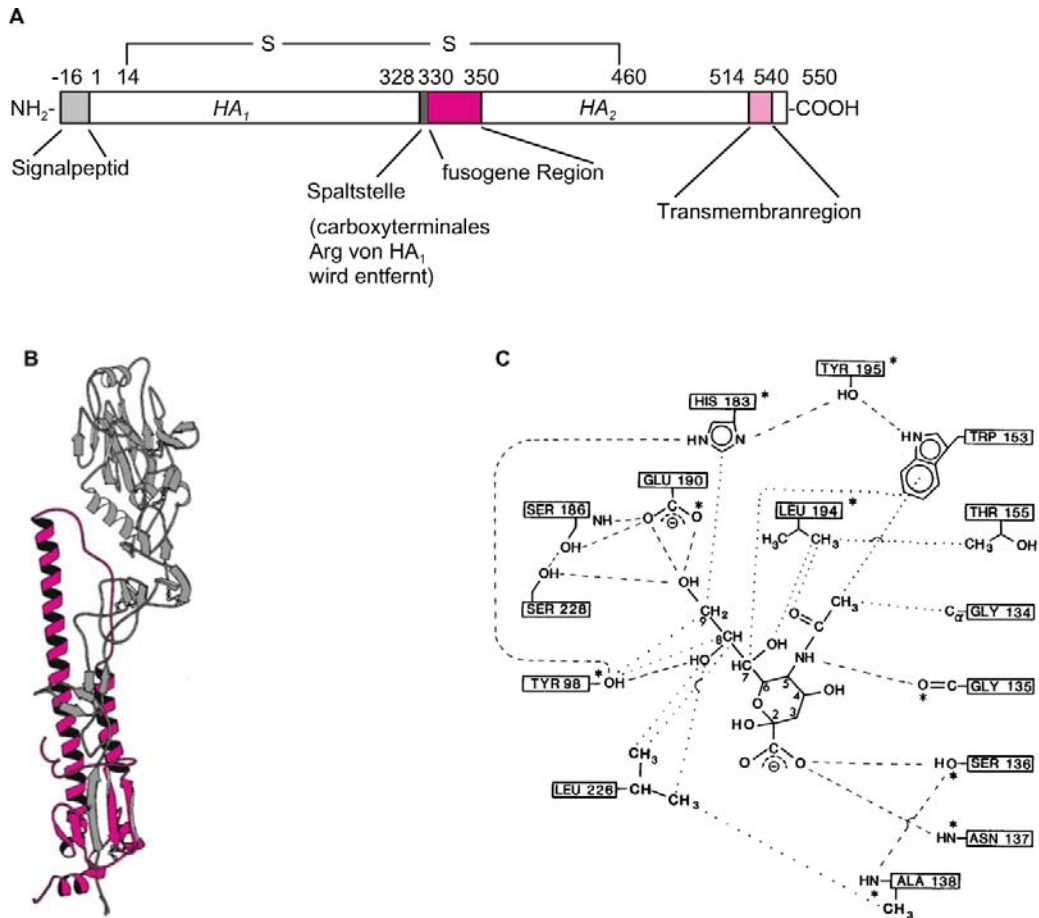
- das *Mini-Plasmin*, das speziell in den Epithelzellen der Segmentbronchien aus den Vorläuferprodukten Plasminogen oder Plasmin gebildet wird,
- die *Protease Clara*, die von den sogenannten Clara-Zellen (sekretorisch aktive Epithelzellen des Lungenskapillarnetzes) der terminalen, respiratorischen Bronchiolen sezerniert wird,
- die in der Cytoplasmamembran verankerten Serinproteasen des Typ 2, beispielsweise die Proteasen TMPRSS2, TMPRSS4 und HAT.

Welche der Proteasen für die Prozessierung des HA₀-Proteins verwendet wird, bestimmt die Aminosäuresequenz im Bereich der Spaltstelle. Befinden sich hier mehrere basische Arginine und Lysine, so kommen bevorzugt die intrazellulären furin- und subtilisinähnlichen Enzyme zum Zuge. Die neu gebildeten Viren haben damit bereits das Hämagglutinin in seiner prozessierten Version (HA₁ und HA₂) in ihrer Hüllmembran und sind folglich sofort nach ihrer Freisetzung von der Zelloberfläche infektiös. Von diesen Proteasen wird bevorzugt die Aminosäurefolge Arginin-X-Arginin/Lysin-Arginin vor der Spaltstelle erkannt. Derartige polybasische Erkennungsstellen sind charakteristisch

für die hochpathogenen aviären Influenzastämme der Subtypen H5 und H7, den Erregern der klassischen Geflügelpest (► Tabelle 16.8). Im Unterschied dazu haben niedrigpathogene aviäre und die humanen Influenzavirustypen mit den Hämagglutininen H1, H2 und H3 überwiegend nur eine basische Aminosäure vor der Proteasespaltstelle. Diese monobasische Spaltstelle wird von den intrazellulären Enzymen nicht gut erkannt. Die Prozessierung und damit die Induktion der Infektiosität erfolgt daher erst nach Freisetzung der Viren von den infizierten Zellen durch gewebespezifische, lokale Proteasen, wie die Protease Clara im Bronchialepithel, welche für ihre Aktivität die Sequenzfolge Glutamin/Glutaminsäure-X-Arginin vor der Spaltstelle benötigt. Man vermutet, dass diese Unterschiede für die Pathogenität und die Virulenz der verschiedenen Influenzavirussubtypen wesentlich sind (► Abschnitt 16.3.5). HA₁ und HA₂ bleiben über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden (► Abbildung 16.7A). Durch die Spaltung wird am aminoterminalen Ende des HA₂-Proteins ein Abschnitt unpolarer, hydrophober Aminosäuren exponiert, der so seine *fusogene Aktivität* zur Verschmelzung der Virus- mit der Endosomenmembran zu Beginn des Replikationszyklus entfalten kann (vergleiche die Aktivität des F-Proteins der Paramyxoviren; ► Abschnitt 15.3.3).

Die Adsorption des Virus an endständige *N*-Acetyl-Neuraminsäuren (Sialysäuren), die sich als Modifikation von Membranproteinen oder -lipiden auf der Zelloberfläche befinden, wird durch eine globuläre Domäne im HA₁-Protein vermittelt. An der Bindung sind mehrere Aminosäuren beteiligt, die durch die dreidimensionale

Faltung in räumliche Nähe zueinander gekommen sind (► Abbildung 16.7B, C). Für die Interaktion ist wichtig, in welcher Weise die endständigen Sialylsäurereste mit dem vorletzten Zuckerrest der Kohlenhydratmodifikation verbunden sind. Hierbei handelt es sich um eine Galactose. Die Sialylsäure kann mit ihr in



16.7 Das Hämagglutinin der Influenza-A-Viren. **A:** Schematische Darstellung des HA-Proteins und die Lokalisation der funktionell wichtigen Domänen. Die Zahlen beziehen sich auf die Position in der Aminosäuresequenz des Hämagglutinins des Stammes A/Aichi/2/68/H3N2 (beginnend an der ersten Aminosäure am aminoterminalen Ende nach Abspaltung des Signalpeptids). Angegeben sind weiterhin die Spaltstelle, die fusogene Region, die Transmembranregion und die Cysteinreste, die eine Disulfidbrücke ausbilden, durch welche die beiden Spaltprodukte miteinander verbunden bleiben. **B:** Kristallstruktur des Komplexes von HA₁ und HA₂ nach der Spaltung, dargestellt als Bändermodell. Die Pfeile repräsentieren β -Faltblattstrukturen, die Zylinder α -Helices. Das HA₁-Protein ist grau, der HA₂-Anteil rot angefärbt. Im natürlichen HA₂-Protein ist das Protein am carboxyterminalen Ende um die Transmembrandomäne und den kurzen cytoplasmatischen Anteil verlängert. Diese wurden aus technischen Gründen zur verbesserten Reinigung und Kristallisation des externen Teiles des Proteinkomplexes entfernt. Die Adsorptionsstelle, über welche das HA₁-Protein mit endständigen Neuraminsäureresten interagiert, befindet sich an der Membran abgewandten Stelle des HA₁, in dieser Abbildung im oberen Teil des HA₁-Proteins, wo die Aminosäuren eine globuläre Domäne ausbilden. (Aus: Lamb, R. A.; Krug, R. M. *Fields Virology*, Bd 1, S. 1361. Mit freundlicher Genehmigung von F. Hughson und D. Wiley, Howard Hughes Medical Institute, Harvard University, Cambridge, Mass.) **C:** Wechselwirkungen des HA₁-Proteins mit der *N*-Acetyl-Neuraminsäure. Gezeigt sind die verschiedenen Aminosäuren (entsprechend ihren Positionen im HA₁), die über Wasserstoffbrücken (gestrichelte Linien) und van-der-Waals-Kontakte (gepunktete Linien) mit dem Zuckerrest im Zentrum der Abbildung interagieren. Die Sternchen zeigen die Aminosäurereste an, die unter den verschiedenen Influenza-A-Virusstämmen einen hohen Konservierungsgrad aufweisen. (Aus: Wharton, S. A. et al. In: Krug, R. M. (Hrsg.) *The Influenza Viruses*. New York 1989, S. 135.)

$\alpha(2,3)$ - oder $\alpha(2,6)$ -glycosidischer Bindung verknüpft sein. Die Aminosäuren an den Positionen 226 und 228 des HA-Proteins scheinen hauptsächlich dafür verantwortlich zu sein, welche Version gebunden wird. Sie sind jedoch nicht direkt an der Interaktion beteiligt, sondern beeinflussen wohl die Konformation der Bindungsstelle. Liegen hier Leucin- beziehungsweise Serinreste vor, dann binden sich die HA-Komplexe bevorzugt an *N*-Acetyl-Neuraminsäurereste, die in $\alpha(2,6)$ -Bindung mit der Galactose verknüpft sind. Die Veränderung des Leucins zu einem Glutamin sowie diejenige des Serins zu Glycin bewirkt hingegen die Erkennung der $\alpha(2,3)$ -glycosidischen Bindung. Dieser Unterschied spielt für den Wirtstropismus der Viren und somit für ihre Pathogenität eine wichtige Rolle. Er ist entscheidend für die Effizienz der zoonotischen Übertragung zwischen verschiedenen Arten.

Das *HEF-Protein* der Influenza-C-Viren hat ein Molekulargewicht von 88 kD und unterscheidet sich in Funktion und Sequenz deutlich von den Proteinen der anderen Influenzaviren: Es vereint in sich die *rezeptorbindenden* und *fusogenen Eigenschaften* mit den *rezeptorzerstörenden Aktivitäten* (Neuraminidase). Ähnlich wie das HA-Protein liegt es als Trimer vor und muss zur Aktivierung der Fusionswirkung durch eine trypsinähn-

liche, zelluläre Protease gespalten werden. Als Rezeptor verwenden Influenza-C-Viren die *N-Acetyl-9-O-Acetyl-Neuraminsäure*. Die rezeptorzerstörende Aktivität entspricht der einer Neuraminsäure-*O*-Acetylesterase. Antikörper, die gegen das HA- beziehungsweise HEF-Protein gerichtet sind, können die Viren neutralisieren. Leicht unterschiedliche Funktionen findet man beim Virus der infektiösen Anämie der Lachse: Es bindet an *N-Acetyl-4-O-Acetyl-Neuraminsäure* und verfügt über eine Esterase als rezeptorzerstörende Aktivität, welche 4-*O*-Acetylgruppen von den Kohlenhydratkomplexen spaltet.

Die *Neuraminidase (NA)* der Influenza-A- und -B-Viren ist als *Tetramer* aktiv. Die NA-Monomere haben eine Länge von etwa 460 Aminosäuren. Die zur Verankerung in der Membran dienende hydrophobe Sequenzfolge befindet sich in der Nähe des Aminoterminus. Ein aminoterminales Signalpeptid existiert nicht (► Abbildung 16.8A). Die glycosylierten NA-Proteine sind daher *Membranproteine des Typs II*, deren Aminoterminus nicht im Lumen des endoplasmatischen Reticulums, sondern im Cytoplasma der Zelle lokalisiert ist. Die Röntgenstrukturanalyse ergab, dass die NA-Proteine einen „Stiel“-Teil besitzen, der sich an die Transmembranregion anschließt. Der übrige Teil des NA-Proteins



Die Klärung der Struktur des Hämagglutinins brachte wichtige Daten für das Verständnis der Proteinfunktion

Im Jahre 1981 klärten Ian Wilson, John Skehel und Don Wiley den Aufbau des HA-Komplexes durch Röntgenstrukturanalyse auf. Es war das erste virale Membranprotein, bei dem dies gelang. Dafür spalteten sie den oberflächenexponierten Anteil des Komplexes durch Behandlung mit Bromelin ab und erhielten so ein lösliches Trimer. Diese und weiterführende Untersuchungen ergaben, dass die Adsorption an *N*-Acetyl-Neuraminsäure durch eine *globuläre Domäne* aus acht antiparallelen β -Faltblättern des HA₁-Anteils vermittelt wird. Sein aminoterminal Ende ist in Membrannähe lokalisiert (► Abbildung 16.7B). Die folgenden 63 Aminosäuren haben eine gestreckte Konformation und bilden eine Art Abstandhalter zwischen der Membran und der sich daran anschließenden globulären Domäne. Die Bindung an die *N-Acetyl-Neuraminsäure* als zellulären Rezeptor erfolgt über eine taschenartig geformte Struktur, die für Antikörpermoleküle unzugänglich ist. Durch die Faltung der Aminosäurekette in der globulären Domäne wird die Neuraminsäurebindungsstelle von Proteinbereichen umgeben, die *B-Zellepitope* darstellen. Hiergegen sind die neutralisierenden Antikörper gerichtet, die der Wirt im Infek-

tionsverlauf bildet. Vor allem bezüglich der Sequenzen dieser Epitope unterscheiden sich die verschiedenen Influenza-A-Virussubtypen und -varianten. Ähnlich wie bei den Picornaviren (► Abschnitt 14.1) ist bei den Influenzaviren die eigentliche Rezeptorbindungsstelle nicht oberflächenexponiert und so dem Selektionsdruck durch die Antikörper entzogen.

Der Teil des HA₁-Proteins, der sich an die globuläre Domäne anschließt, ist so gefaltet, dass das carboxyterminale Ende wiederum in Membrannähe liegt. Die amino- und carboxyterminalen Anteile des HA₁-Proteins können miteinander wechselwirken und zusammen mit dem aminoterminalen Bereich des HA₂-Proteins eine *stammähnliche Struktur* ausbilden (► Abbildung 16.7B). Im Verlauf der Adsorptions- und Aufnahmeprozesse der Viruspartikel in das zelluläre Endosomenkompartiment erfährt die Struktur des HA₁/HA₂-Komplexes durch die damit verbundene Ansäuerung größere Umlagerungen, sodass die hydrophobe Region am Aminoterminus des HA₂-Proteins in die benachbarte Endosomenmembran eintauchen und die Fusion vermitteln kann.

von etwa 390 Aminosäureresten ist in eine *globuläre Struktur* gefaltet. Diese Domäne besteht aus sechs β -Faltblattregionen, von denen jede aus vier β -Faltblättern besteht. Von oben gesehen haben sie Ähnlichkeit mit einem Flugzeugpropeller mit sechs Rotorblättern (► Abbildung 16.8B). Die als Homotetramer in der Membran verankerte Neuraminidase hat die Form eines Pilzes, die miteinander interagierenden globulären Domänen bilden den „Pilzhut“. Dieses Enzym hat die Funktion, nach erfolgter Infektion die Neuraminsäurereste, die dem Virus als Rezeptor dienen, von der Zelloberfläche zu entfernen. Der Vorgang spielt bei der *Freisetzung der Viruspartikel* eine wichtige Rolle und soll verhindern, dass die Virionen über die HA-Proteine mit Membranbestandteilen der durch die Infektion zerstörten Zelle wechselwirken. Außerdem wird so vermutlich das Verkleben der Partikel miteinander unterbunden – die Viren selbst haben keine endständigen Neuraminsäurereste auf ihrer Oberfläche, weil diese durch das Enzym entfernt werden.

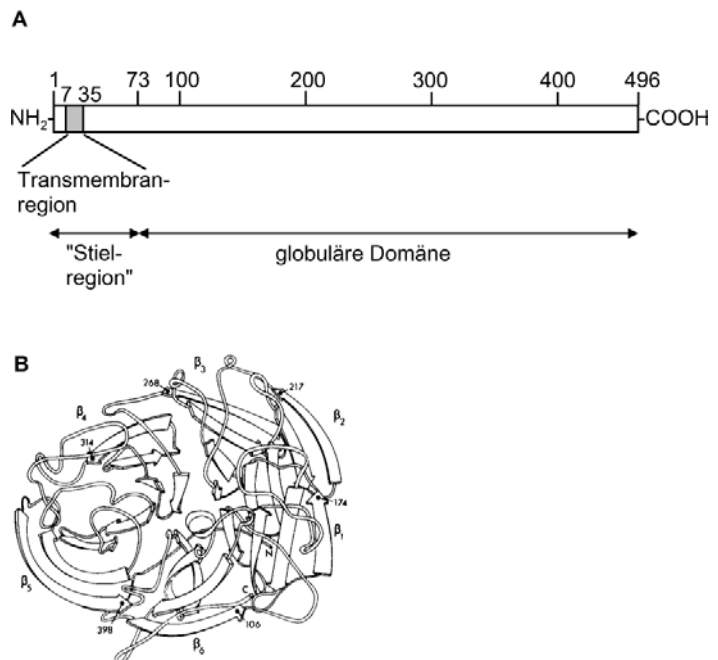
Wie die HA-Proteine unterscheiden sich auch die Neuraminidasen verschiedener Virusisolate voneinander. Insgesamt kennt man bei den Influenza-A-Viren *neun Subtypen* von NA-Proteinen (N1 bis N9). Ebenso wie gegen die HA-Proteine werden auch gegen die Neuraminidase Antikörper gebildet, die *neutralisierende Eigenschaften* haben. Sie hemmen zwar nicht die Bindung der Viren an den Rezeptor, verhindern aber bis zu einem gewissen Grad die Ausbreitung im Organismus. Die Kombination der verschiedenen HA- und NA-Pro-

teine in einem Virusisolat bestimmt somit die antigenen Eigenschaften des jeweiligen Influenzavirussubtyps.

Beim Influenza-B-Virus findet man auf dem Genomsegment 6 außer dem NA-Gen die genetische Information für ein weiteres, glycosyliertes Membranprotein: Das *NB-Protein* (12 kD) codiert in einem mit dem Neuraminidasegen überlappenden Leserahmen, der vier Nucleotide vor diesem beginnt. Das Protein ist durch eine hydrophobe Domäne gekennzeichnet, die als Transmembranregion wirkt und das Protein in der Hüllmembran der infektiösen Partikel verankert. Die Funktion des NB-Proteins ist nicht endgültig geklärt, es gibt jedoch Hinweise, dass es ähnlich wie das BM2-Protein einen Ionenkanal bildet. Gentechnisch konstruierte Virusmutanten, die das NB-Protein nicht produzieren, vermehren sich *in vitro* ähnlich gut wie die Wildtyp-Influenza-B-Viren. In infizierten Mäusen findet man dagegen einen verlangsamten Replikationszyklus.

Die *M1-Proteine (Matrixproteine)* liegen in den Viruspartikeln in hoher Kopienzahl vor. Sie haben ein Molekulargewicht von 28 kD, sind mit der Innenseite der Hüllmembran assoziiert und bilden hier eine Schicht aus, in der sie miteinander wechselwirken. Sie besitzen keine Transmembranregion, sondern scheinen über Interaktion mit den im Cytoplasma gelegenen Abschnitten der HA-, NA- und M2-Proteine mit der Virushülle assoziiert zu sein. Zugleich sind sie mit den NP-Proteinen der Nucleocapside verbunden. Sie haben eine wichtige Funktion bei der Verpackung der Nucleocapside in die entstehenden Viruspartikel.

16.8 Die Neuraminidase der Influenza-A-Viren. **A:** Schematische Darstellung des NA-Proteins und die Lokalisation der funktionell wichtigen Domänen. Die Zahlen beziehen sich auf die Position in der Aminosäuresequenz der Neuraminidase des Stammes A/Tokyo/3/67/H3N2 (beginnend am aminoterminalen Ende). Die Lage der Transmembranregion und der Domänen, die den „Stiel“ und die globuläre Proteinregion bilden, ist angegeben. **B:** Kristallstruktur der globulären Domäne der Neuraminidase, dargestellt als Bändermodell. Die Pfeile repräsentieren β -Faltblattstrukturen. Die sechs großen β -Faltblattregionen sind nach ihrer Lage im Protein mit β_1 bis β_6 bezeichnet. N und C bezeichnen die amino- und carboxyterminalen Enden des Proteins; die aminoterminalen Transmembranregion wurde proteolytisch entfernt. (Aus: Colman, P. M. In: Krug, R. M. (Hrsg.) *The Influenza Viruses*. New York 1989, S. 189.)



Das *M2-Protein* der Influenza-A-Viren (A/M2-Protein) wird zusammen mit dem M1-Protein auf dem Genomsegment 7 codiert. Für seine Synthese wird die M1-spezifische mRNA *gespleißt*. Die acht aminoterminalen Aminosäuren beider Proteine sind identisch. Ab dem Spleißpunkt ändert sich das Leseraster und damit die Aminosäuresequenz (► Abbildung 16.9A). Das so gebildete M2-Protein hat ein Molekulargewicht von circa 15 kD und liegt in der infizierten Zelle in hoher Kopienzahl vor, im Viruspartikel dagegen nur in wenigen Einheiten. Es ist fettsäuremodifiziert und über eine Folge von 20 hydrophoben Aminosäuren (Aminosäuren 24 bis 44) in der Membran verankert. Das M2-Protein liegt in der Virushüllmembran als Tetramer vor. Die Transmembranregionen der vier Proteine interagieren und bilden einen Ionenkanal, für dessen Aktivität die Aminosäuremotive H₃₇XXXW₄₁ essenziell sind. Im frühen Stadium der Infektion nach Aufnahme des Viruspartikels durch Endocytose bewirkt die Protonenkanalfunktion die Ansäuerung des Virusinneren und veranlasst hierdurch eine Umlagerung der Strukturen des M1-Proteins. Dadurch lockert sich die Wechselwirkung der M1-Proteine mit den Nucleocapsiden, sodass diese im Anschluss in den Zellkern transportiert werden. Spät im Infektionszyklus werden die M2-Proteine in die Membran der Golgi-Vesikel eingelagert und verhindern durch die Regulation des pH-Wertes die vorzeitige Strukturumlagerung der HA₁/HA₂-Proteine und die damit in Verbindung stehende Induktion der Fusionsaktivität. *Amantadin*, ein antiviral wirkendes Therapeutikum, tritt in Wechselwirkung mit den Aminosäuren des Protonenkanals und hemmt so seine Funktion (► Kapitel 9). Mutationen im M2-Gen, insbesondere solche, die am Kanaleingang hydrophobe durch polare Aminosäuren ersetzen (beispielsweise den Alaninrest an Position 30 durch Serin) vermitteln eine Resistenz gegen Amantadin.

Bei Influenza-B-Viren ist ein *M2-analogen Protein* (BM2, 18 kD) ebenfalls auf dem Genomsegment 7 codiert. Es wird zusammen mit dem M1-Protein der Influenza-B-Viren von einer bicistronischen mRNA translatiert. Das Startcodon für die Initiation des BM2-Proteins überlappt um eine Base mit dem Stoppcodon, das die Synthese des M1-Proteins terminiert. Das BM2-Protein wirkt ähnlich wie das A/M2-Protein der Influenza-A-Viren als Ionenkanal, ein Vergleich der Aminosäuresequenzen zeigt nur geringe Homologie, jedoch ist das H₁₉XXXW₂₃-Motiv konserviert. Amantadin beeinflusst bei Influenza-B-Viren allerdings die Funktion des BM2-Proteins nicht. Influenza-B-Viren sind daher generell nicht durch diese und ähnliche Substanzen hemmbar. Das Protein wurde in der Cytoplasmamembran infizierter Zellen und in der Virushülle

nachgewiesen. Gentechnisch erzeugte Virusvarianten, deren BM2-Proteingehalt in den Viruspartikeln vermindert ist, verlieren an Infektiosität. Bei Influenza-C-Viren ist auf dem Segment 6 zusammen mit dem M1-Gen ein entsprechendes Ionenkanalprotein codiert, das als CM2 bezeichnet wird.

Komponenten des Nucleocapsids Das *NP-Protein* ist die Hauptkomponente der Nucleocapside. Die RNA-Moleküle sind über ihre gesamte Länge mit dem Polypeptid komplexiert. Es ist reich an *basischen Argininresten*, besitzt eine Domäne, die seinen Transport in den Zellkern vermittelt, und hat ein Molekulargewicht von etwa 55 kD. Während des Replikationszyklus ist es in seiner freien, nicht-RNA-gebundenen Form für den korrekten Ablauf der Genomreplikation wichtig. Die Sequenz des NP-Proteins unterschiedlicher Influenzaviren ist hochkonserviert und bestimmt den jeweiligen Virustyp. Es besitzt wichtige *T-Zell-Epitope*, die von den infizierten Zellen im Komplex mit MHC-Klasse-I-Proteinen präsentiert werden, und ist daher für die Auslösung der zellulären Immunantwort des Wirtes und die Eliminierung der virusinfizierten Zellen aus dem Organismus wichtig.

Die Komplexe der *P-Proteine* aus den Komponenten *PB1*, *PB2* und *PA*, die nichtkovalent zu heterotrimeren Komplexen miteinander verbunden sind, liegen in etwa 50 Einheiten pro Viruspartikel vor und sind bevorzugt mit den Enden der Genomsegmente assoziiert. Sie besitzen die Aktivität einer *RNA-abhängigen RNA-Polymerase*. Alle drei Proteine haben Molekulargewichte von 80 bis 90 kD und weisen Signalsequenzen für den Transport in den Zellkern auf. Die PB1- und PB2-Proteine sind reich an *basischen Aminosäuren*. PA gilt dagegen als saures Protein. Das PB2-Protein bindet sich an 5'-Cap-Strukturen zellulärer mRNA-Moleküle – sie werden als Primer für die virale mRNA-Synthese verwendet – und spaltet diese nach etwa zehn bis 13 Nucleotiden von den Enden der zellulären Transkripte ab (*cap-snatching*). Der PB1-Anteil besitzt die Polymerase-Aktivität und ist für die Kettenverlängerung verantwortlich. Die Funktionen des PA-Proteins sind nicht völlig geklärt. Es ist für die Replikation der Genomsegmente und hier vor allem für den Schritt notwendig, bei dem die antigenomischen Plusstrangsegmente (cRNAs) als Matrizen für die Neusynthese der genomischen RNAs (vRNAs) verwendet werden. Dabei ist das PA-Protein an die zwölf aminoterminalen Aminosäuren des PB1-Proteins gebunden. Wird die Komplexbildung gestört, indem man die Sequenzen des PB1-Proteins in dieser Domäne durch Mutation verändert, dann ist die RNA-Polymerase-Aktivität drastisch reduziert und die Viren vermehren sich schlecht oder gar nicht. Auch hat man Hinweise,

dass die Phosphorylierung der PB1-Proteine durch die zelluläre Proteinkinase C die Enzymaktivität beeinflusst. Erst kürzlich wurde entdeckt, dass das PA-Protein auch als Serinprotease wirkt. Das Serin an Position 624 ist Teil des aktiven Zentrums. Die enzymatische Aktivität hat ihr Optimum bei 37°C, bei tieferen Temperaturen (33°C) ist sie eingeschränkt. Welche Funktion die PA-Protease während der Infektion hat, ist noch unbekannt. Man weiß nur, dass sie für die katalytischen Prozesse bei der Transkription und Replikation der viralen RNA-Segmente nicht nötig ist.

Nichtstrukturproteine

Die beiden *Nichtstrukturproteine* NS1 und NS2/NEP werden auf dem Segment 8 (beziehungsweise Segment 7 bei Influenza-C-Viren), dem kleinsten des Influenzavirusgenoms, codiert (► Abbildung 16.9B).

NS1-Protein Die *NS1-Proteine* der Influenza A- und -B-Viren besitzen Molekulargewichte von 26 kD beziehungsweise 40 kD. Ältere Daten wiesen darauf hin, dass sie das Spleißen der viralen Transkripte beeinflussen. Sie sind jedoch vorrangig Virulenzfaktoren, welche antivirale Abwehrstrategien der Zelle in vielfältiger Weise beeinflussen. Sie bilden Dimere und werden nach ihrer Synthese in den Zellkern transportiert; die Phosphorylierung durch die zelluläre Proteinkinase C scheint für die funktionellen Aktivitäten notwendig zu sein. Die aminoterminalen NS1-Domänen bilden ein Strukturmotiv aus sechs α -Helices, welches für die Bindung an doppelsträngige RNA verantwortlich ist. Insbesondere der Arginin-Rest an Position 38 des NS1-Proteins der Influenza-A-Viren ist für diese Wechselwirkung von entscheidender Wichtigkeit. Die carboxyterminale Region stellt die Effektor-domäne dar: Das NS1-Protein der Influenza-A-Viren verfügt hier über das Signal für den Transport in den Zellkern sowie über Sequenzfolgen, die für die Interaktion mit verschiedenen Zellproteinen verantwortlich sind. Veränderungen einzelner Aminosäuren der Effektor-domäne sind für die Aktivität des NS1-Proteins entscheidend: So zeigte sich, dass der Glutaminsäurerest an Position 92 für die Viren besonders wichtig ist, um der antiviralen Interferonwirkung auszuweichen. Eine derartige Sequenzfolge fand man in den Isolaten des Subtyps H5N1, der initial 1997 in Hongkong von Geflügel auf Menschen übertragen wurde und schwerste Erkrankungen mit einer hohen Letalität verursachte.

Die NS1-Proteine greifen in verschiedene Wege der Basisimmunabwehr des Organismus ein:

1. Die Infektion der Influenzaviren leitet in den betroffenen Lungenepithelzellen, insbesondere aber

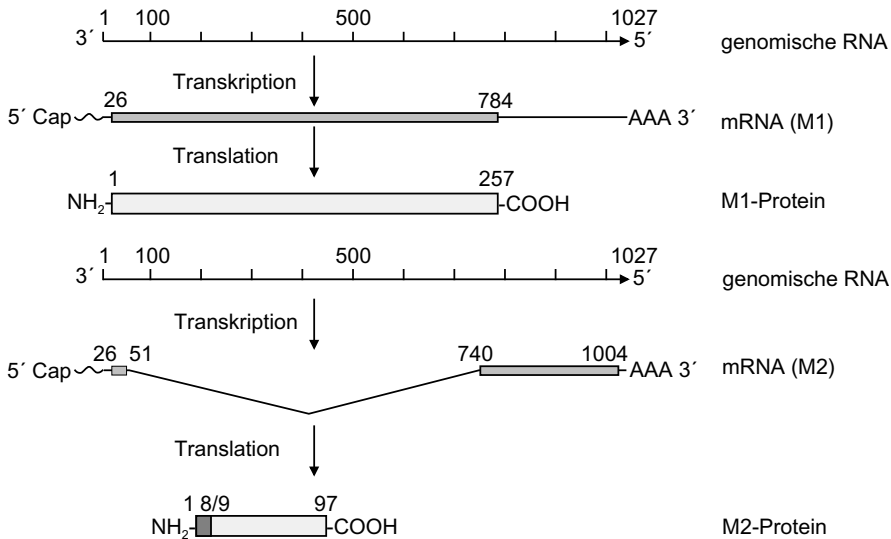
in dendritischen Zellen, die Synthese von Interferon- α und - β ein, welche dosisabhängig die Virusreplikation hemmen. Für die Expression der Interferogene müssen verschiedene Transkriptionsfaktoren, unter anderem NF κ B, IRF-3 und IRF-7 (*interferon-response factor*) zusammenwirken. Die Interferone- α und - β vermitteln in den Nachbarzellen antivirale Reaktionen wie beispielsweise die Induktion der MxA-Gene und tragen dazu bei, dass die Ausbreitung der Infektion im Gewebe unterbunden wird (► Kapitel 8). Die Bindung des NS1-Proteins an NF κ B verhindert dessen Aktivierung und beeinflusst so die Expression der Interferogene.

2. Zusätzlich zur Aktivierung der Genexpression sind die interferonvermittelten Abwehrstrategien von der Anwesenheit doppelsträngiger RNA-Moleküle abhängig. Diese werden bei der Transkription der Virusgene und bei der Virusgenomreplikation als Intermediate gebildet. Indem sich das NS1-Protein an dsRNA bindet, verhindert es die dsRNA-vermittelte Aktivierung der 2'-5'-Oligoadenylat-Synthetase. Dieses Enzym wird durch die Wirkung von Interferonen induziert und aktiviert seinerseits in den Zellen die RNase L. Die RNase L baut einzelsträngige RNA-Moleküle ab und schädigt die Genexpression des Virus wie der Zelle gleichermaßen. Durch die Interaktion der NS1-Proteine mit der dsRNA unterbindet das Virus diesen Abwehrvorgang.
3. Ebenso verhindern die NS1-Proteine die Aktivierung der Proteinkinase R (PKR, *protein kinase RNA-regulated*). Die PKR wird im Rahmen der unspezifischen Immunabwehr durch die Wechselwirkung mit dsRNA – gebildet bei der Transkription und Replikation der viralen Genomsegmente – oder mit spezifischen Zellproteinen aktiviert. Sie phosphoryliert die α -Untereinheit des Translationsinitiationsfaktors eIF2, dies hemmt die Synthese viraler wie zellulärer Proteine. Die Hemmwirkung der NS1-Proteine scheint auf einer direkten Interaktion der NS1-Proteine mit der PKR und nicht auf dem zuvor beschriebenen indirekten Weg über die Wechselwirkung mit dsRNA zu basieren.
4. Das NS1-Protein des Influenza-A-Virus wirkt als *Hemmfaktor* für die 3'-Prozessierung der neu gebildeten zellulären mRNAs. Es bindet sich an die 30 kDa-Untereinheit des CPSF (*cleavage and polyadenylation specificity factor*) und an das PABII-Protein (*poly(A)-binding protein II*) und hemmt deren Funktionen bei der posttranskriptionellen Modifikation der mRNA-Vorläuferprodukte. Diese werden nicht polyadenyliert, folglich ist ihr Transport

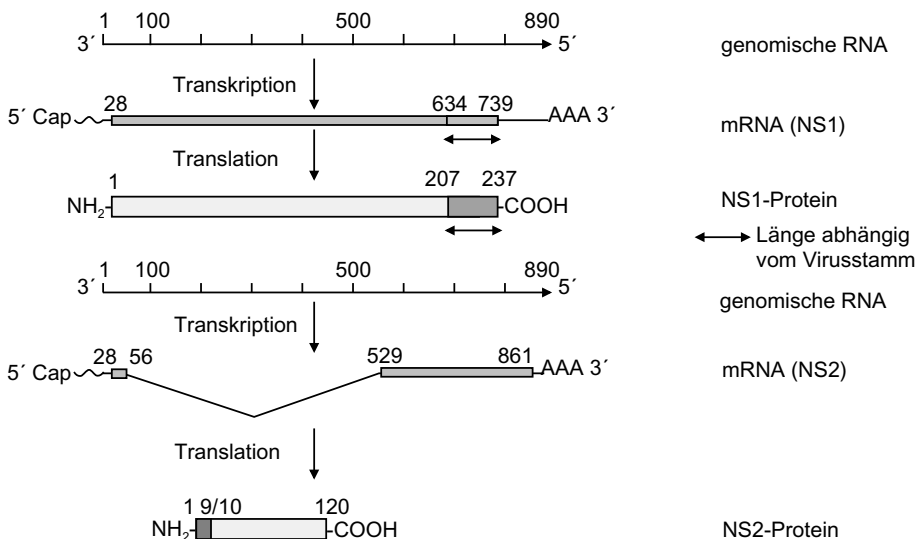
aus dem Zellkern unterbunden. Dieser Vorgang greift generell in den Zellstoffwechsel ein, er verhindert aber auch die Aktivierung der interferonabhängigen Immunabwehr: Bei der Adsorption löst die Bindung der Influenza-A-Viren an die Zellober-

fläche eine Signalkaskade aus, die IRF-3 und IRF-7 aktiviert. Beide gelangen dadurch in den Zellkern und bilden zusammen mit weiteren Transkriptionsfaktoren (p300, *CREB-binding protein*) einen Komplex (VAF, *virus activated factor*). VAF induziert die

A Segment 7

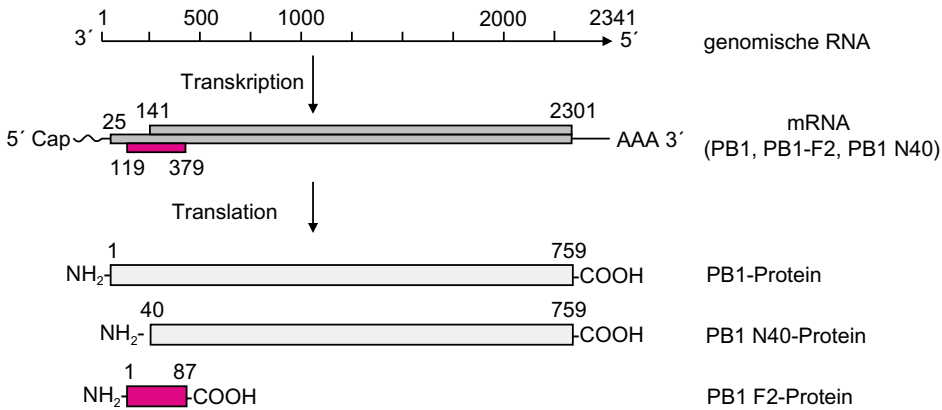


B Segment 8



16.9 Genomorganisation der beiden kleinen RNA-Segmente sowie des zweitgrößten RNA-Segments der Influenza-A-Viren. **A:** Genomsegment 7. Das Segment wird transkribiert. Das M1-Protein wird von der so entstandenen, ungespleißten mRNA translatiert. Durch Spleißen entsteht eine weitere mRNA-Form. Sie dient zur Translation des M2-Proteins. Seine acht aminoterminalen Aminosäurereste sind mit dem M1-Protein identisch. Am Spleißpunkt ändert sich das Leseraster und damit die Proteinsequenz. **B:** Genomsegment 8. Das Segment wird transkribiert. Das NS1-Protein wird von der so entstandenen, ungespleißten mRNA translatiert. Durch Spleißen entsteht eine weitere mRNA-Form. Sie dient zur Translation des NS2-Proteins, dessen aminoterminalen Aminosäurereste mit dem NS1-Protein identisch sind. Am Spleißpunkt ändert sich das Leseraster und damit die Proteinsequenz.

C Segment 2



16.9 (Fortsetzung) **C:** Genomsegment 2. Das Segment wird transkribiert. Das PB1-Protein sowie die Proteine PB1-F2 und PB1 N40 werden von der so entstandenen, ungespeißen mRNA translatiert. Das PB1 N40-Protein beginnt unter Verwendung des gleichen Leserasters an einem alternativen AUG-Startcodon und stellt ein aminoterminal um 39 Aminosäuren verkürztes Protein PB1 dar. Für den Synthesestart des PB1-F2-Proteins wird ein AUG-Codon verwendet, das sich um eine Base (+1) verschobenen Leseraster befindet.

Expression der Gene, die unter Kontrolle der ISRE (*interferon stimulated regulatory elements*; ► Kapitel 8) stehen, sie codieren überwiegend antiviral wirkende Proteine. Da die NS1-Proteine durch Hemmung der Polyadenylierung den Export der mRNAs aus dem Zellkern unterbinden, kommt es nicht zur Synthese dieser antiviralen Faktoren – ein Teil der Basisabwehr der infizierten Zelle wird unterdrückt. Im Unterschied zum Influenza-A-Virus zeigt das NS1-Protein der Influenza-B-Viren keine Wechselwirkung mit den CPSF- und PABII-Proteinen, es hemmt die posttranskriptionelle Modifikation der mRNA-Vorläufer nicht. Es stellte sich heraus, dass die NS1-Proteine der Influenza-B-Viren aber an das Protein ISG15 (*interferon stimulated gene 15*) binden. Die Synthese dieses antiviral wirkenden Faktors wird über die Aktivierung des IRF-3 eingeleitet. Ob dieser Vorgang ebenfalls zum Abschalten der unspezifischen Immunantwort beiträgt, ist noch ungeklärt.

NS2/NEP-Protein Die Transkripte für die Synthese des Proteins NS2/NEP werden durch Spleißen aus der NS1-spezifischen mRNA gebildet (► Abbildung 16.9B). Das NS2-Protein bezeichnet man auch als NEP (*nuclear export protein*). Man findet es zudem in geringen Konzentrationen in den Viruspartikeln. Das Protein NS2/NEP ist für den Export der im Verlauf des Infektionszyklus neu gebildeten viralen Nucleocapsidsegmente (Ribonucleoproteinsegmente, vRNPs) aus dem Zellkern in das Cytoplasma verantwortlich. Diese sind während des Replikationszyklus fest über die Interak-

tion der viralen NP-Proteine mit den Histonen der Kernmatrix verbunden. Ein Teil der neu in der Zelle synthetisierten Matrixproteine M1 wird in den Zellkern transportiert und löst hier die feste Verbindung der vRNPs mit den Histonen. Das virale NS2/NEP-Protein interagiert vermutlich mit den M1-komplexierten vRNPs und bewirkt die Anlagerung des zellulären Exportins CRM1 (*chromosome region maintenance 1 protein*). Dieses fördert den Transport von Proteinen, die ein nucleäres Exportsignal (NES) aufweisen, aus dem Zellkern in das Cytoplasma und interagiert dabei mit den Nucleoporinen in der Kernmembran. Eine solche an Leucinresten reiche NES-Sequenz befindet sich in der aminoterminalen Domäne der NS2/NEP-Proteine.

PB1-F2- und PB1 N40-Protein Bei Influenza-A-Viren wurde ein weiteres Nichtstrukturprotein gefunden. Es wird durch einen offenen Leseraster codiert, der sich auf dem Genomsegment 2 im PB1-Gen in einem anderen Raster befindet (► Abbildung 16.9C). Daher bezeichnet man es als *PB1-F2-Protein* (PB1-frame-2; 10 kD). Seine Translation erfolgt ebenso wie diejenige des Proteins PB1 N40 nicht von alternativ gespleißten Transkripten, sondern durch die Verwendung alternativer Startcodons, die sich benachbart zum 5'-Cap-Ende der mRNA befinden. Das PB1-F2-Protein umfasst 87 Aminosäuren und wirkt als Virulenzfaktor: Rekombinante Influenza-A-Viren, in welchen man seine Translation durch *In vitro*-Mutagenese des Startcodon verhinderte, zeigten im Mausmodell eine deutlich geringere Pathogenität. Auch die Veränderung der Aminosäure

Serin an Position 66 zu Asparagin bewirkt die Bildung einer attenuierten Virusvariante.

Die PB1-F2-Proteine findet man sowohl im Cytoplasma wie im Kern der infizierten Zellen, außerdem reichern sie sich in den Membranen der Mitochondrien an. Verantwortlich hierfür sind die Aminosäuren der carboxyterminalen Domäne des PB1-F2-Proteins, die als MTS-Signal (*mitochondrial targeting sequence*) wirken. Das PB1-F2-Protein interagiert mit zwei Proteinen der Mitochondrienmembran, nämlich dem ANT3-Protein (*adenine translocator 3*) in der inneren und dem VDACL1-Protein (*voltage dependant anion channel 1*) in der äußeren Mitochondrienmembran. Dies fördert die Bildung eines Porenkomplexes (*permeability transition pore complex*), der die Mitochondrienmembran durchlässig macht und die Freisetzung von mitochondrialen Produkten, beispielsweise von Cytochrom C in das Cytoplasma einleitet. In den Zellen wird als Folge die Apoptose ausgelöst. Diese proapoptotische Funktion scheint von der Phosphorylierung des PB1-F2-Proteins abzuhängen und ist zellspezifisch: Sie kommt vor allem in infizierten Lymphocyten und anderen immunologisch aktiven Zellen wie Monocyten und den Alveolar-makrophagen zum tragen. Diese Vorgänge bewirken möglicherweise gezielt eine Unterdrückung der Immunantwort im Epithel der infizierten Atemwege. Dies behindert nicht nur die Immunabwehr bei der Bewälti-

gung der Influenzavirusinfektion, sondern fördert möglicherweise auch die Überinfektion mit Bakterien wie *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae*. Das PB1-F2-Protein scheint aber noch weitere Aktivitäten zu haben: Es bildet Komplexe mit dem PB1-Protein, das ebenfalls auf dem zweitgrößten RNA-Segment codiert und als RNA-abhängige RNA-Polymerase wirkt. Diese Interaktion bewirkt die Steigerung der Enzymaktivität des PB1-Proteins. In Zellen, die mit PB1-F2-negativen Influenza-A-Viren infiziert wurden, fand man das PB1-Protein überwiegend im Cytoplasma und nicht im Zellkern lokalisiert.

Kürzlich wurde beschrieben, dass das RNA-Segment 2 zusätzlich zu den Proteinen PB1 und PB1-F2 für ein drittes Protein codiert. Dieses Nichtstrukturprotein wird als PB1 N40 bezeichnet. Seine Translation erfolgt im selben Leseraster wie diejenige des PB1-Proteins unter Verwendung des AUG-Codons an Position 40 als Startcodon (► Abbildung 16.9C). Beim Protein PB1 N40 handelt es sich folglich um eine aminoterminal verkürzte Version des PB1-Proteins, das selbst keine RNA-Polymeraseaktivität aufweist, aber ähnlich wie das PB1-F2-Protein mit PB1 in Wechselwirkung tritt und dessen Funktion beeinflusst.

Die ► Tabelle 16.9 gibt einen Überblick zu den charakteristischen Eigenschaften der durch Influenzaviren codierten Proteine.

Tabelle 16.9 Eigenschaften und Funktionen der von Influenzaviren codierten Proteine

Proteine	Influenza A	Influenza B	Influenza C	Funktion
A. Strukturproteine				
HA	77 kD glycosyliert, acyliert	77 kD glycosyliert	-	Vorläuferprotein für HA ₁ und HA ₂ ; Induktion neutralisierender Antikörper
HA ₁	50 kD glycosyliert	50 kD glycosyliert	-	aminoterminaler Anteil von HA; Adsorption an Neuraminsäure, Hämagglutination
HA ₂	26 kD glycosyliert, acyliert	26 kD glycosyliert	-	carboxyterminaler Anteil von HA; Membranfusion
HEF	-	-	88 kD glycosyliert	Hämagglutination; Rezeptorbindung; Membranfusion; Induktion neutralisierender Antikörper; Acetylsterase
HEF1	-	-	65 kD glycosyliert	aminoterminaler Anteil von HEF
HEF2	-	-	30 kD glycosyliert	carboxyterminaler Anteil von HEF
NA	56 kD glycosyliert	57 kD glycosyliert	-	Neuraminidase; Abspaltung endständiger Neuraminsäurereste; wichtig bei Freisetzung der Partikel; Induktion neutralisierender Antikörper

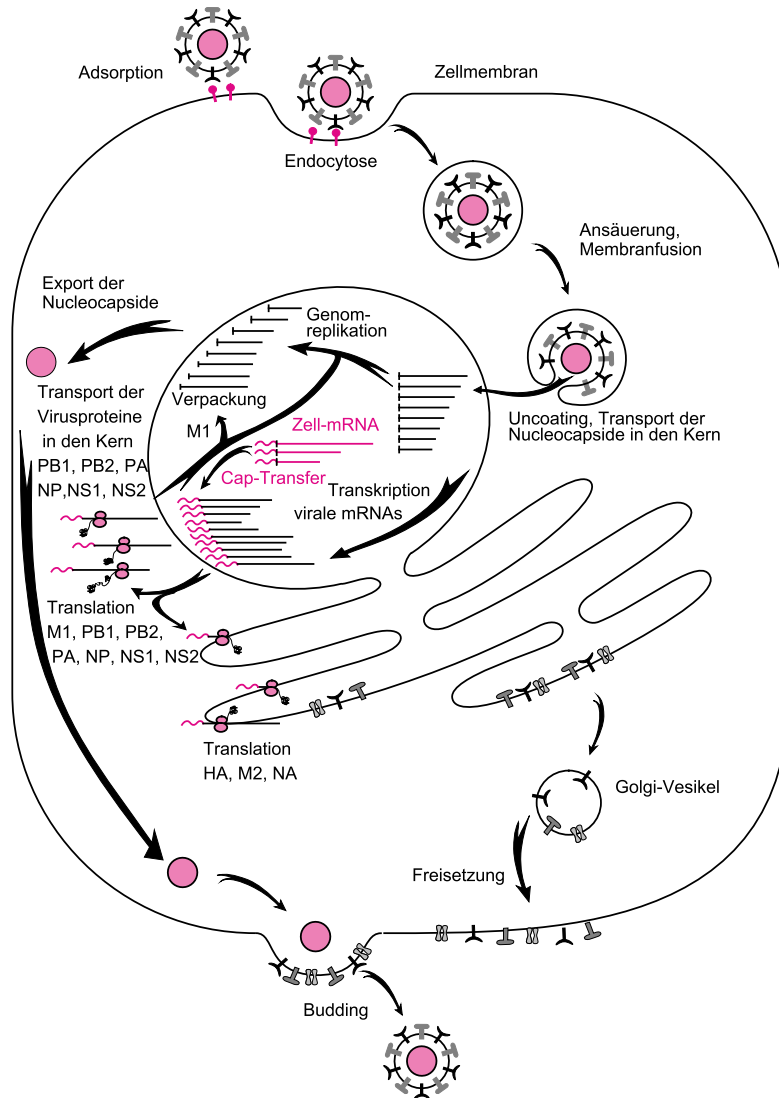
Tabelle 16.9 (Fortsetzung)

Proteine	Influenza A	Influenza B	Influenza C	Funktion
M1	28 kD	28 kD	30 kD	Matrixprotein; assoziiert mit der Innenseite der Virusmembran; funktionell aktiv bei der Morphogenese
A/M2 BM2 CM2	15 kD (A/M2)	18 kD (BM2)	18 kD (CM2)	integrales Membranprotein; Ionenkanalprotein, früh im Infektionszyklus funktionell aktiv bei der Entlassung der Nucleocapside aus den Endosomen
NP	55 kD	55 kD	60 kD	Hauptkomponente des Nucleocapsids; basisch; Kerntransportsignal
PB1	90 kD phosphoryliert	85 kD	89 kD	Komponente des Nucleocapsids und des Polymerasekomplexes; RNA-abhängige RNA-Polymerase; basisch
PB2	80 kD	88 kD	85 kD	Komponente des Nucleocapsids und des Polymerasekomplexes; Bindung an 5'-Cap-Strukturen; basisch
PA	83 kD	83 kD	82 kD	Komponente des Nucleocapsids und des Polymerasekomplexes; saure Serinproteaseaktivität
NS2/NEP	11 kD	11 kD	14 kD	regulatorisches Protein; in geringen Mengen im Virion; Export der vRNPs aus dem Kern in das Cytoplasma
NB	–	12 kD	–	glycosyliertes Membranprotein; in Virionen vorhanden; Ionenkanal?
B. Nichtstrukturproteine				
NS1	26 kD phosphoryliert	40 kD	25 kD	Kernprotein; Hemmfaktor beim RNA-Spleißen; reguliert Export der gespleißten mRNA; verhindert NFκB-Aktivierung und Expression von IFN-α und IFN-β
PB1-F2	10 kD phosphoryliert	–	–	Virulenzfaktor; akkumuliert in der Mitochondrienmembran; induziert Apoptose immunologisch aktiver Zellen (Alveolarmakrophagen); reguliert die RNA-Polymerase-Aktivität von PB1
PB1 N40	85 kD	?	?	aminoterminal verkürzte Version von PB1; reguliert die RNA-Polymerase-Aktivität von PB1

16.3.4 Replikation

Die Vertreter der Orthomyxoviren binden sich über ihre HA-beziehungswise HEF-Oberflächenproteine an die N-Acetyl-Neuraminsäure beziehungsweise die N-Acetyl-9-O-Acetyl- oder N-Acetyl-4-O-Acetyl-Neuraminsäure auf der Zelloberfläche. Die Cytoplasmamembran umschließt die gebundenen Viruspartikel und nimmt sie mittels rezeptorvermittelter Endocytose in Vesikeln in die Zelle auf. Die Nucleocapside sind damit gleichsam von zwei Membranen umgeben. Durch die zellulär gesteuerte Ansäuerung des Endosomenvesikels verändert

das HA-Protein seine Konformation. Dadurch gelangt die fusogene Region am aminoterminalen Ende des HA₂-Fragments in unmittelbare Nähe der Endosomenmembran. Der hydrophobe Charakter der fusionsvermittelnden Aminosäuren erlaubt das Einlagern des aminoterminalen HA₂-Endes in die Endosomenmembran und induziert die Verschmelzung der beiden Lipiddoppelschichten. Die fusogene Aktivität des HA-Proteins ähnelt weitgehend der des F-Proteins der Paramyxoviren (► Abschnitt 15.3.3). Auch dieses muss gespalten werden, damit es aktiv werden kann (► Abbildung 15.6). Der Hauptunterschied zwischen den beiden Proteinen ist, dass bei Paramyxoviren die Membranfusion



16.10 Replikationsverlauf bei Influenzaviren.

bei der Bindung der Viren an die Zelloberfläche induziert wird und die Verschmelzung zwischen Cytoplasma- und Virusmembran erfolgt. Bei den Orthomyxoviren ist eine direkte Membranverschmelzung nicht möglich. Für die Aktivierung der fusogenen Wirkung des HA-Proteins ist die *Ansäuerung im Endosom* unbedingte Voraussetzung. Durch die Fusion der Endosomen mit der Virusmembran werden die Nucleoproteinkomplexe aus den Vesikeln entlassen und gelangen in das Cytoplasma (► Abbildung 16.10).

Die Ansäuerung durch den Protonenkanal des M2-Proteins löst zugleich die Interaktion der NP- mit den M1-Proteinen. Die segmentierten Nucleocapside gelangen in das Cytoplasma und werden durch die Kernporen

in den Zellkern transportiert, wo die folgenden *Transkriptions- und Replikationsschritte* ablaufen. Influenzaviren stellen somit unter den RNA-Viren eine Ausnahme dar, da sie im Zellkern replizieren. Zunächst wirkt der Ribonucleoproteinkomplex als Matrize für die Produktion von viralen mRNA-Molekülen. Der Promotor hierfür befindet sich in den Sequenzen an den 3'-Enden der verschiedenen Segmente, die den Transkriptionsstartpunkten vorgelagert sind und mit den 5'-Enden doppelsträngige Strukturen ausbilden. Die virale RNA-abhängige RNA-Polymerase kann die Synthese der mRNAs weder selbst initiieren noch kann eines der Proteine PB1, PB2 oder PA die mRNA-Moleküle mit 5'-Cap-Gruppen modifizieren oder methylieren. Orthomyxovi-

ren haben deshalb zur Initiation der Transkription einen Mechanismus entwickelt, der es ihnen ermöglicht, die 5'-Cap-Strukturen von zellulären mRNA-Molekülen zu nutzen. Hierzu binden sich die PB2-Proteine, die als Bestandteile der Nucleocapside mit den 3'-Enden der Genomsegmente assoziiert sind, an die 5'-Cap-Gruppen von zellulären mRNA-Molekülen und lagern sie an die 3'-Enden der viralen RNA-Segmente an. Das terminale Nucleotid ist hier immer ein Uridin. Mit diesem hybridisiert ein Adeninrest in den ersten zehn bis 13 Basen der zellulären mRNAs. Eine dem PB2-Protein eigene *Nucleaseaktivität* spaltet die zelluläre mRNA nach dem Adenin und erzeugt so ein *freies 3'-OH-Ende*, das als Primer für die folgenden Polymerisationsschritte dient. Dieser Mechanismus des 5'-Cap-Stehlens (auch bekannt als *cap snatching*) hat für das Virus zusätzlich den Vorteil, dass er die zellspezifische Transkription und Translation unterbricht und den Wirtsstoffwechsel auf die Bedürfnisse der Virusinfektion umschaltet. Es werden fast nur noch die Virusgene transkribiert und die entsprechenden Proteine synthetisiert.

An der Elongation der mRNA sind die drei *Proteine PB1, PB2 und PA* des Polymerasekomplexes beteiligt. Die Transkription wird etwa 15 bis 20 Nucleotide vor dem 5'-Ende der Genomsegmente in der Region beendet, in welcher die einzelsträngigen RNA-Sequenzen in die pfannenstielähnlichen Doppelstrangbereiche übergehen. Diese bilden wahrscheinlich eine physikalische Barriere für den Enzymkomplex und verlangsamen die Polymerisation. Eine hier lokalisierte, bei allen mRNA-Spezies konservierte uridinreiche Sequenzfolge dient als Signal für die Polyadenylierung der Transkripte. Die von den kleinen RNA-Segmenten gebildeten Transkripte werden teilweise gespleißt. Dabei scheint das NS1-Protein als Spleißosomen-Cofaktor beteiligt zu sein. Hauptaufgabe des NS1-Proteins ist es jedoch, antiviralen Abwehrvorgängen in den infizierten Zellen entgegenzuwirken (► Abschnitt 16.3.3). Unter anderem verhindert es spezifisch die Polyadenylierung der zellulären Transkripte. Die viralen Transkripte sind hiervon nicht betroffen, da diese durch eine mit dem Komplex der PB1-, PB2- und PA-Proteine verbundene Aktivität polyadenyliert werden.

Beim *Export* der viralen mRNAs aus dem Kern wirken zelluläre mit viralen Komponenten (NS2/NEP-Protein) zusammen. Die Translation der membranassoziierten Proteine (HA beziehungsweise HEF, NA und M2) erfolgt an der Membran des rauhen endoplasmatischen Reticulums. Eine Signalase entfernt cotranslational nach dem Durchschleusen der Aminosäureketten die aminoterminalen Signalpeptide von den HA-Proteinen. Über Golgi-Apparat und Trans-Golgi-Netzwerk werden die modifizierten Proteine zur Zelloberfläche transportiert.

Sie interagieren dabei zu trimeren beziehungsweise tetrameren Komplexen und werden glycosyliert. Die HA- und M2-Proteine werden zusätzlich durch Anfügen von Palmitinsäure modifiziert, und das HA-Protein kann ab diesem Zeitpunkt durch zelluläre Proteasen in die Anteile HA₁ und HA₂ gespalten werden. Das als *H⁺-Kanal* aktive M2-Protein reguliert den pH-Wert in den Golgi-Vesikeln und verhindert dadurch die vorzeitige Induktion der Fusionsaktivität der HA-Komplexe in diesem subzellulären Kompartiment.

Die Proteine PB1, PB2, PA, NP, NS1, NS2/NEP und M1 besitzen in ihren Sequenzen Signale für den Transport in den Zellkern. Bei der sich anschließenden Replikation der Genomsegmente entfalten sie ihre verschiedenen Aktivitäten. Für das *Umschalten* vom Transkriptions- in den Replikationsmodus müssen freie, neusynthetisierte NP-Proteine im Kern angereichert sein. Man vermutet, dass sie durch Interaktion mit den Proteinen des Polymerasekomplexes diese in ihrer Wirkung modifizieren und so die Replikation einleiten. Auch die Initiation der replikativen RNA-Synthese scheint *primerabhängig* zu sein. *In vitro* reichen hierfür die Dinucleotide pppApG aus; sie hybridisieren mit den 3'-Enden der Genomsegmente und liefern die notwendigen freien 3'-OH-Enden, an denen mithilfe der PB1-, PB2- und PA-Proteine unter Auflösung der pfannenstielähnlichen Strukturen an den Genomenden ein *vollständiger Gegenstrang* synthetisiert wird. An diese *Antigenome* lagern sich NP-Proteine an, werden in einem analogen Prozess als Matrizen zur Synthese neuer viraler RNA-Stränge in negativer Orientierung verwendet und assoziieren mit den NP-, PB1-, PB2- und PA-Proteinen zu *Nucleocapsiden* (vRNPs). An diese binden sich im folgenden Schritt die Matrixproteine M1, und die Komplexe werden, vermittelt durch die Exportfunktion der NS2/NEP-Proteine, aus dem Zellkern in das Cytoplasma und hier an die Stellen transportiert, an denen erhöhte Mengen an HA-, NA- und M2-Proteinen in die Zellmembran eingelagert sind. Man vermutet, dass sich die Nucleocapside durch die mit ihnen assoziierten M1-Proteine an die ins Cytoplasma ragenden Sequenzen der HA₂-Proteine binden. Hier bilden sich die *initialen Budding-Strukturen*, die Membran stülpt sich aus und umschließt die Nucleocapside, die durch *Knospung* an der Oberfläche abgegeben werden. Durch die Aktivität des *NA-Proteins* werden endständige Neuraminsäurereste von den zellulären und viralen Oberflächenproteinen entfernt. So wird verhindert, dass die freigesetzten Viruspartikel miteinander oder mit Membranbestandteilen der durch die Infektion geschädigten Zelle wechselwirken und verkleben.

Es ist unklar, ob es einen Mechanismus gibt, der gewährleistet, dass in jedes Viruspartikel die richtige

Kombination der acht beziehungsweise sieben Genomsegmente verpackt wird. Eine derartige Selektion ist nur schwer vorstellbar. Stattdessen werden in jedes Virus etwa *elf bis 13 Nucleocapsidsegmente* eingelagert, ohne Rücksicht darauf, um welche es sich handelt. Nur ein Teil der neu gebildeten Virionen ist somit infektiös, bei der Züchtung von Influenzaviren in Zellkultur sind es nur etwa zehn Prozent der Nachkommenviren.

16.3.5 Human- und tierpathogene Orthomyxoviren

Die Influenzaviren

Epidemiologie und Übertragung

Influenzaviren werden vor allem durch virushaltige *Aerosole* und Tröpfchen übertragen und verursachen bei Menschen die echte *Grippe* oder *Influenza*, eine schwere akute Erkrankung der Atemwege und des gesamten Organismus. Während sich die Krankheitsverläufe bei den Influenza-A- und -B-Viren weitgehend ähneln, zeichnen sich Infektionen mit Influenza-C-Viren beim Menschen durch nur leichte Symptome aus. Außerdem spielen Influenza-A-Virusinfektionen bei Geflügel sowie bei Schweinen und Pferden tiermedizinisch eine wichtige Rolle. Neben ihrer Bedeutung als Krankheitserreger bei diesen Tierarten besitzen alle Influenzaviren grundsätzlich zoonotisches Potenzial. Übertragungen von Influenzaviren von Geflügel oder Schwein auf den Menschen sind dokumentiert und zum Teil als Ursachen für die großen Influenzapandemien identifiziert. Im Gegensatz zu den Influenza-A-Viren sind die Influenza-B- und -C-Viren von untergeordneter Bedeutung. Influenza-B-Viren sind beim Menschen als Pathogen beschrieben, in der Tiermedizin spielen sie keine Rolle, obgleich kürzlich die Isolierung von Influenza-B-Viren aus frei lebenden Seehunden mit respiratorischer Symptomatik gelang. Influenza-C-Viren werden zuweilen aus Menschen und Schweinen isoliert, verursachen jedoch dort keine schweren Erkrankungen.

Die Influenza-A-Virusinfektion tritt in der menschlichen Bevölkerung in unregelmäßigen Abständen als *Pandemie* auf. So gab es in den vergangenen 120 Jahren – einem Zeitraum, der epidemiologisch überblickbar ist – sechs große Ausbrüche der Influenza in den Jahren 1890, 1900, 1918/19, 1957, 1968 und 1977. Vermutlich hatten alle ihren Ursprung in *Südostasien* und breiteten sich von dort, zum Beispiel auf Schiffen, nach Europa und Amerika aus. Im Frühjahr 2009 verbreiteten sich die Influenza-A-Viren erneut weltweit, in diesem Fall hatte die Pandemie ihren Ursprung in Mexiko. Die jeweiligen Erreger, die man als Subtypen bezeichnet, verursachten

unterschiedlich schwere Erkrankungen. Während bei den saisonalen Epidemien Todesfälle vor allem bei älteren oder geschwächten Personen zu verzeichnen sind, waren bei der Spanischen Grippe von 1918/19 auch die Personen zwischen 20 und 40 Jahren massiv betroffen. Von anderen viralen Erkrankungen unterscheidet sich die Influenza auch dadurch, dass die sich im Infektionsverlauf ausbildende Immunität nur vor Folgeinfektionen mit Viren des gleichen Subtyps effizient schützt. Dieselben Personen können so trotz vorliegender neutralisierender Antikörper gegen die „alten“ mehrmals mit verschiedenen „neuen“ Influenzavirussubtypen infiziert werden.

Die Isolierung des ersten humanen Influenza-A-Virus durch Wilson Smith, Christopher Andrews und Patrick Laidlaw 1933 und die sich anschließenden, zum Teil retrospektiv durchgeführten seroepidemiologischen Untersuchungen zeigten, dass sich die Influenza-A-Viren der aufeinander folgenden Pandemien in der *Erkennung ihrer Oberflächenproteine HA und NA durch Antikörper (Antigenität)* unterscheiden. Das 1933 isolierte Influenza-A-Virus war eine Variante der Viren, welche die Pandemie von 1918/19 verursacht hatten. Ihm ordnete man den Subtyp *H1* und *N1* zu. Bei dem Influenzavirus der Pandemie von 1957 wurden gegen das Hämagglutinin und die Neuraminidase Antikörper mit einer anderen Spezifität gebildet. Man bezeichnete es deshalb als den Subtyp *H2N2*. Antikörper aus Personen, die mit dem Virus des Jahres 1957 infiziert worden waren, konnten das Influenza-A-Virus von 1918 nicht neutralisieren und umgekehrt. Das Influenza-A-Virus der Pandemie von 1968 hatte ein anderes Hämagglutinin (*H3*) als die beiden vorangegangenen Subtypen, zeigte jedoch die gleiche Reaktivität hinsichtlich der Neuraminidase. Auch wenn sich die Situation der um die Jahrhundertwende 1890/1900 vorherrschenden HA-Subtypen nicht mit letzter Gewissheit klären lässt, hat man Hinweise darauf, dass der gleiche HA-Subtyp, nämlich *H3*, bereits bei der Grippepandemie des Jahres 1900 aufgetreten war, hier in Verbindung mit der Neuraminidase *N8* oder *N2* (► Tabelle 16.10). In den Zeiten zwischen den einzelnen Pandemien traten kleinere Epidemien auf. Die Viren waren zunächst anscheinend aus der Bevölkerung, die eine schützende Immunität gegen das jeweilige Virus aufbaute, verschwunden. Einige Zeit später traten sie in leicht veränderter Form (Antigen-Drift) wieder auf und lösten saisonal gehäuft meist im Winterhalbjahr neue Erkrankungswellen aus. Die Variabilität betraf vor allem die viralen Oberflächenproteine *HA* und *NA*, die im Infektionsverlauf die Bildung neutralisierender Antikörper induzieren. Derzeit zirkulieren in der menschlichen Bevölkerung Viren der Subtypen *H1N1* (saisonale und neue Viren) und *H3N2*.

Tabelle 16.10 Epidemiologie der menschlichen Influenza-A-Viren

Jahr	Virussubtyp	vermutlicher Ursprungswirt	ausgetauschte Segmente
1890	H2N2?	?	keine serologischen Untersuchungen möglich
1900	H3N8/H3N2?	?	keine serologischen Untersuchungen möglich
Entwicklung der Influenza-A-Pandemieviren durch Bildung von Reassortanten			
1918/19 Spanische Grippe	H1N1	Geflügel	8 Segmente Adaptation eines Geflügelvirus an Schweine und/oder Menschen
1957 ↓ 5 Segmente Asiatische Grippe	H2N2	Geflügel	3 Segmente (Zweifach-Reassortante) PB1, HA, NA
1968 ↓ 6 Segmente Hongkong-Grippe	H3N2	Geflügel	2 Segmente (Zweifach-Reassortante) PB1, HA
2009 ↓ 1 Segment Neue Grippe (Schweinegrippe)	H1N1	Schwein Geflügel	7 Segmente (Vielfach-Reassortante) HA, NA, NP, M, NS, PB2, PA
Ausbrüche von Influenza-A-Virus-Infektionen in Menschen ohne Reassortantenbildung			
1977 Russische Grippe	H1N1	-	identisch mit dem Subtyp H1N1 der Spanischen Grippe (Freisetzung eines Laborstamms der Spanischen Grippe?)
seit 1997	H5N1	Geflügel	Infektion des Menschen mit einem Geflügelvirus

Die Aminosäuren der verschiedenen HA-Proteine der unterschiedlichen Subtypen der Influenzaviren unterscheiden sich beträchtlich. Der Homologiegrad des HA₁-Anteils beträgt nur 35 Prozent. Bei HA₂ und der Neuraminidase sind etwa 53 beziehungsweise 56 Prozent der Aminosäuren gleich. Die Veränderungen der Influenza-A-Virussubtypen der aufeinander folgenden Pandemien beruhen meist auf dem Austausch von Gensegmenten zwischen verschiedenen Viren (Reassortierung). Die Virussubtypen besitzen *neue RNA-Segmente* der entsprechenden Gene. Influenza-A-Viren sind außer beim Menschen in verschiedenen Vogel- (Möwen, Wild- und Hausenten, Gänsen, Schwänen) und Säugetierarten (Schweinen, Pferden) verbreitet. Werden alle berücksichtigt, so kennt man bis heute *16 verschiedene Subtypen der HA- und neun der NA-Proteine*. Alle 16 Subtypen der HA-Proteine (H1 bis H16) konnte man in den verschiedenen aviären Influenzaviren finden (► Tabelle 16.8). Die Subtypen H1, H2 und H3 fand man in humanpathogenen Isolaten, Viren mit H3- und H7-Versionen infizieren Pferde und wenigstens vier der HA-Proteine (H1, H2, H3 und H9) hat man aus infizierten Schweinen gewonnen. Es gibt Sequenzfolgen, die für die Oberflächenproteine der Influenzaviren von Vögeln, Pferden beziehungsweise Schweinen und Menschen spezifisch sind und die Wirtsspezifität reflektieren. Hierzu zählen die Aminosäurepositionen 226 und 228 des HA-Proteins, die dafür entscheidend sind, ob sich die HA-Proteine bevorzugt an Sialylsäurereste binden,

die in $\alpha(2,3)$ - oder $\alpha(2,6)$ -glycosidischer Bindung mit der benachbarten Galactose verknüpft sind. Humanpathogene Viren bevorzugen die $\alpha(2,6)$ -glycosidische Bindung. Die tierpathogenen Subtypen verhalten sich unterschiedlich: Während aviäre und equine Influenzaviren eine hohe Affinität zu $\alpha(2,3)$ -glycosidisch verbundenen Sialylsäureresten haben, können sich die für Schweine infektiösen Subtypen an beide Versionen binden. Die verschiedenen Subtypen weisen jedoch untereinander eine wesentlich größere Variabilität auf als die Proteine des gleichen Subtyps aus unterschiedlichen Wirten. Neben charakteristischen Aminosäurefolgen der Oberflächenproteine und der Spaltbarkeit der Hämagglutinine vermitteln wohl vor allem die PB1 und PB2, sowie die NP-, M1- und M2-Proteine die Wirtsspezifität. Sie sind in den verschiedenen Influenzaviren unterschiedlicher Spezies konserviert. So ist beispielsweise beschrieben, dass bei einem Influenza-A-Virus (H7N7) des Geflügels Veränderungen der Aminosäuresequenzen in PB1 (Asparaginsäure an Position 701 zu Asparagin) und NP (Asparagin an Position 319 zu Lysin) die Wechselwirkung mit Importin α_1 in Säugetierzellen erleichtern. Als Folge davon können diese Proteine in Säugerzellen effizient in den Zellkern transportiert werden und die Adaptation eines Geflügel-Influenza-A-Virus an Säugetierzellen ermöglichen.

Ähnlich wie beim Menschen verursachen Influenza-A-Viren bei Schweinen und Pferden Infektionen des Respirationstraktes. Sie sind bei den Tieren mit hoher



Das System zur Bezeichnung der Subtypen der Influenzaviren

Die Nomenklatur der verschiedenen human- und tierpathogenen Influenzavirusstämme bedient sich folgenden Schemas: Neben dem Virustyp (Influenzavirus A, B oder C) gibt man den Wirt an, aus dem der Erreger isoliert wurde, den geographischen Ort der Isolierung, die Nummerierung des Isolats, das Jahr und die Subtypen der HA- und NA-Proteine. So lautet zum Beispiel die Bezeichnung eines der ersten isolierten Influenza-A-Viren aus dem Schwein: A/Swine/

Iowa/15/30(H1N1). Es wurde 1930 in Iowa als fünfzehntes Virus des Subtyps H1N1 isoliert. Wenn das Isolat aus einem Menschen gewonnen wurde, gibt man den Wirt nicht an. A/HK/1/68(H3N2) war also der erste Virusstamm des Subtyps H3N2, der 1968 in Hongkong in Menschen nachgewiesen wurde. Bei Influenza-B- und -C-Viren entfällt der Hinweis auf den HA- beziehungsweise NA-Subtyp.

Morbidität, aber geringer Mortalität verbunden. Erkrankungen bei Schweinen verursachen vor allem Viren des Subtyps H1N1. Influenzaviren vom Subtyp H3N2 sind für Schweine ebenfalls infektiös, jedoch nur selten mit Erkrankungen verbunden. Die Pferdeinfluenza (auch bekannt als „Hoppegartener Husten“) wird vor allem durch Infektionen mit den Subtypen H7N7 und H3N8 hervorgerufen (► Tabelle 16.8). Während bis 1979 nur H7N7-Stämme aus den erkrankten Pferden isoliert wurden, findet man seitdem regelmäßig H3N8-Viren. In jüngster Zeit wurden in den USA bei Rennhunden Infektionen mit H3N8-Viren beschrieben. Die genetische Analyse dieser Virusisolate deutet auf ihre direkte Übertragung von infizierten Pferden auf die Hunde hin.

Bei den Vögeln sind Influenzaviren praktisch weltweit in Wasservögeln (zum Beispiel Enten, Gänse, Möwen, Tauchern) verbreitet. Durch den Vogelzug erfolgt eine ständige Weiterverbreitung und Durchmischung der Virussubtypen, die durch den Menschen nicht kontrollierbar ist. In den Vögeln vermehren sich die Viren im Unterschied zum Menschen und den Säugetieren im Gastrointestinaltrakt. Sie werden daher mit dem Kot der Vögel in das Wasser ausgeschieden. Insbesondere in kalten Gewässern bleiben die Viren über Tage und Wochen infektiös. Bei Wildvögeln verlaufen die Infektionen meist subklinisch. Bestimmte Subtypen der Influenzaviren verursachen vor allem in domestiziertem Geflügel jedoch systemische Infektionen und schwere Erkrankungen mit hoher Sterblichkeit (bis zu 100 Prozent). Die hochvirulenten Stämme der Serotypen H5N1, H5N2 und H7N1 waren lange Zeit als *Fowl-Plague-Virus* (Virus der klassischen Geflügelpest) bekannt. Ein schwerer Ausbruch der Geflügelpest mit Viren des Subtyps H5N1 ereignete sich 1959 in Schottland, seitdem sind weltweit mehr als 20 Ausbrüche dieser hochpathogenen Influenza-A-Viren (HPAI) in Geflügel beschrieben worden, die mitunter mehrere Jahre andauerten und immensen wirtschaftlichen Schaden verursachten

(► Tabelle 16.11). Dabei wurden zum Teil mehrere Millionen Tiere gekeult.

Vor allem in Südostasien beobachtete man vor einigen Jahren zunächst vereinzelte Infektionen des Menschen mit für das Geflügel hochvirulenten Influenzaviren des Subtyps H5N1, dem Virus der klassischen Geflügelpest. Ein erster dokumentierter Ausbruch ereignete sich im Mai 1997 in Hongkong: Innerhalb von acht Monaten wurden 18 dieser Virusinfektionen im Menschen dokumentiert, von denen sechs tödlich verliefen. Das Virus wurde in allen Fällen direkt von infizierten Vögeln nur durch engen Kontakt auf die Menschen übertragen.

Seit dem Jahr 2003 haben sich Influenzaviren des Subtyps H5N1 epidemisch über Geflügelmärkte in die Hühner- und Putenfarmen vieler Länder Asiens verbreitet. Im Rahmen dieser Epidemie wurden auch viele wildlebende Vögel infiziert. Durch den Vogelzug wurden die Erreger in die Länder Mittel- und Vorderasiens weiter verbreitet. Dies hatte die Keulung großer Bestände mit Milliarden von Geflügel und Einfuhrverbote für Vögel, Geflügel und Geflügelprodukte aus den betroffenen Ländern zur Folge. Zugvögel brachten H5N1-Viren im Herbst 2005 auch in die Länder Ost- und Südeuropas. Im Februar 2006 wurden die ersten infizierten Wildvögel in Deutschland und Österreich gefunden. In Deutschland wurden dann auch infizierte und verendete Beutegreifer (Greifvögel, Steinmarder und Katzen) entdeckt. Bis zum Herbst 2009 wurden in Deutschland H5N1-Viren wiederholt auch bei domestiziertem Geflügel nachgewiesen. In allen Fällen betraf es Betriebe, die Wassergeflügel (Enten, Gänse) gehalten haben. Neben mehreren europäischen Ländern wurde Geflügel auch auf dem afrikanischen Kontinent, vor allem in Ägypten, infiziert. Es kam dabei auch zu Übertragungen auf Menschen, verbunden mit mehreren Todesfällen.

Im Rahmen der H5N1-Epidemie im Geflügel wurden laut der Weltgesundheitsorganisation bis September

Tabelle 16.11 Weltweit beobachtete Ausbrüche der Geflügelpest verursacht durch hochpathogene Influenza-A-Viren der letzten 50 Jahre

Jahr	Kontinent/Land/Region	Influenza-A-Virus (Subtyp)	Betroffenes Geflügel
1959	Europa/Großbritannien/Schottland	H5N1	Hühner
1963	Europa/Großbritannien/England	H7N3	Truthähne
1966	Amerika/Canada/Ontario	H5N3	Truthähne
1976	Australien/Victoria	H7N7	Hühner
1979	Europa/Großbritannien/England	H7N7	Truthähne
1983–1985	Amerika/USA/Pennsylvania	H5N2	Hühner, Truthähne (17 Millionen Tiere gekeult, Kosten: 312 Millionen US \$)
1983	Europa/Irland	H5N8	Truthähne
1985	Australien/Victoria	H7N7	Hühner
1991	Europa/Großbritannien/England	H5N1	Truthähne
1992	Australien/Victoria	H7N3	Hühner
1994	Australien/Queensland	H5N2	Hühner
1994–1995	Amerika/Mexiko	H5N2	Hühner (bis heute 2 Millionen Impfungen verabreicht)
1994	Asien/Pakistan	H7N3	Hühner
1994	Australien/Neu-Südwesten	H7N4	Hühner
1997	Asien/Hongkong	H5N1	Hühner (alles Geflügel getötet)
1997	Europa/Italien	H5N2	Hühner
1999–2000	Europa/Italien	H7N1	Truthähne (14 Millionen Tiere gekeult, Kosten: 620 Millionen US \$)
2002	Asien/Hongkong	H5N1	Hühner
2002	Amerika/Chile	H7N3	Hühner
2003	Europa/Niederlande/Belgien/Deutschland	H7N7	Hühner (30 Millionen Tiere gekeult)
Seit 2003	Asien/Europa	H5N1	Hühner, Enten, Truthähne

2009 in Südostasien (Indonesien, Vietnam, Thailand, Kambodscha, Bangladesch, Laos, Myanmar und China), Vorder- und Mittelasien und Afrika (Türkei, Ägypten, Aserbeidschan, Irak, Dschibuti, Nigeria und Pakistan) insgesamt 442 Infektionen bei Menschen beschrieben, die 262 Todesfälle zur Folge hatten (Sterblichkeit von 59 Prozent). Auch bei diesen Fällen handelte es sich um Personen, die beispielsweise als Bauern, Geflügelzüchter oder -händler häufig und intensiv Kontakt mit Hühnern, Puten oder Enten hatten. Übertragungen von H5N1-Viren von Mensch zu Mensch wurden in wenigen Fällen als möglich (beispielsweise bei zwei Personen einer Familie in Thailand im Jahr 2004) beziehungsweise sogar als wahrscheinlich eingeschätzt, wie bei acht Personen einer Familie in Indonesien.

Genetik der Epidemiologie Influenzaviren besitzen die Fähigkeit, einzelne Abschnitte ihres Genoms auszutau-

schen und dadurch die Wirtsspezifität zu überschreiten. So erhalten sie Proteine, die ihnen völlig neue serologische Eigenschaften verleihen können. Der Austausch von einzelnen Genomsegmenten wird als *antigenic shift* bezeichnet. Voraussetzung für diesen Prozess ist, dass Virusstämme mit verschiedenen HA- und NA-Subtypen zugleich in einem Organismus und in denselben Zellen vorliegen. Diese Bedingungen scheinen in *Südostasien*, vor allem in China, besonders oft erfüllt zu sein, denn von dort nahmen die meisten Influenzapandemien ihren Ausgang. Hier leben vor allem in den ländlichen Regionen Enten, Schweine und Menschen sehr eng zusammen. Man stellt sich folgenden Ablauf vor: Anders als bei Säugetieren vermehren sich die Influenza-A-Viren in Vögeln auch in den Epithelzellen des Darmes und werden daher in großen Mengen mit den Exkrementen ausgeschieden, ohne dass die Tiere selbst erkranken. In den Subtypen ihrer Hämagglutinine (bei-



Die Neue Grippe (mexikanische Grippe, „Schweinegrippe“)

Ende April 2009 meldeten Mexiko und die USA auffällige Grippeerkrankungen bei Menschen, in deren Folge es in Mexiko auch zu Todesfällen kam. Es wurde eine Infektion mit dem Influenza-A-Virus vom Subtyp H1N1 festgestellt, welches Ähnlichkeiten mit bei Schweinen vorkommenden Influenzaviren aufwies. Weitere Analysen des Virus ergaben, dass es sich jedoch um einen neuen Erreger handelt: Sein Genom weist RNA-Segmente von porcinen Influenza-A-Viren auf, wobei eine Mischung von eurasischen und amerikanischen Schweinevirusvarianten vorliegt. Aufgrund der weltweiten Vertretung des Virus beim Menschen innerhalb weniger Monate hatte die WHO am 11. Juni 2009 die höchste Pandemie-Warnstufe ausgerufen. Wenig später bekam das neue Pandemievirus den Namen *Neue Grippe*. Jedoch lief dieses Virus bis dahin schon unter einem anderen Namen: Aufgrund der Tatsache, dass die ersten Fälle aus Mexiko gemeldet wurden, wurde die Erkrankung zunächst mit der Bezeichnung „Mexikanische Grippe“ belegt. Weil die mexikanische Regierung dagegen protestierte und Einbußen in Handel und Tourismus befürchtete, spricht man offiziell von der pandemischen Influenza A (H1N1) 2009. Die Tagespresse verwendete jedoch über-

wiegend die Bezeichnung „Schweinegrippe“, was aber sehr unpräzise war. Auch standen die in Mexiko und den USA zuerst aufgetretenen Infektionen nach Informationen der betroffenen Länder nicht unmittelbar mit Kontakten zu infizierten Schweinen in Verbindung. Das Virus dürfte bereits vor einiger Zeit auf den Menschen übergegangen und von Mensch zu Mensch weitergegeben worden sein. Da diese Neue Grippe (Schweinegrippe) bisher überwiegend milde Erkrankungsverläufe zeigt, können Infektionen zu Beginn des Ausbruchs unerkannt geblieben sein.

In Deutschland gibt es einen Pandemieplan, der maßgeblich vom hierfür zuständigen Robert Koch-Institut erstellt wurde. Bund und Länder können gegebenenfalls entsprechende Maßnahmen einleiten und Empfehlungen aussprechen. Bisher zeigte die Therapie mit Neuraminidaseinhibitoren, die bei einzelnen schwereren Verläufen überwiegend bei Patienten mit chronischen Herz- und Kreislauferkrankungen eingeleitet wurde, eine gute Wirkung. Im Oktober 2009 wurden die ersten Impfstoffe für Menschen zugelassen, die spezifisch gegen eine Infektion mit diesem Erreger schützen. Der tatsächliche Nutzen einer Vakzinierung wird als kontrovers diskutiert.

spielsweise H5, H7) findet man eine Spezifität für $\alpha(2,3)$ -glycosidisch gebundene *N*-Acetyl-Neuraminsäurereste und bei hochpathogenen Stämmen mehrere basische Aminosäuren vor der Spaltstelle. Da diese Sequenzfolge gut von intrazellulären Proteasen (► Abschnitt 16.3.3) erkannt wird, sind diese pathogenen Viren schon bei ihrer Freisetzung von den infizierten Zellen infektiös und können sich in den Vögeln ausbreiten. Schweine können sich mit einigen der Vogelinfluenzavirustypen infizieren. Nehmen sie kontaminiertes Wasser zu sich, so kommt es zu einer Infektion mit produktiver Vermehrung der Viren, die sich durch Mutation (*antigenic drift*) an diesen neuen Wirt weiter adaptieren, die Spezifität zur Bindung an $\alpha(2,6)$ -glycosidisch gebundene *N*-Acetyl-Neuraminsäurereste erlangen und sich in der Schweinepopulation verbreiten, woraus eine Infektion des Respirationstrakts resultiert. Dabei müssen sich vor allem die viralen Enzyme auch an veränderte Temperaturbedingungen anpassen und für diese optimiert werden. Während sie bei den systemischen Infektionen der Vögel bei einer Temperatur von 37 bis 38 °C aktiv sind, herrschen im Respirationstrakt der Säugetiere nur etwa 33 °C.

Schweine sind zugleich auch empfänglich für Infektionen mit humanen Influenzavirustypen, sodass ein

Schwein zur gleichen Zeit mit Influenzaviren zweier unterschiedlicher Wirte produktiv infiziert sein kann. Findet diese Infektion in derselben Zelle statt, können bei der Morphogenese am Ende des Replikationszyklus sogenannte *Virusreassortanten* entstehen, die Gemische der verschiedenen Genomsegmente enthalten. In seltenen Fällen kann so ein „erfolgreicher“ Subtyp entstehen, der vom infizierten Schwein auf den Menschen übertragen wird, in ihm eine produktive Infektion auslöst und an andere Personen effizient weitergegeben wird. Die Influenzavirusreassortante kann so eine neue Influenzaviruspandemie auslösen, da die betroffene Bevölkerung zunächst keinen Immunschutz besitzt.

Unklar ist, warum man bisher nur drei der 16 verschiedenen in der Natur vorkommenden HA-Subtypen der Influenzaviren bei den Pandemien in der menschlichen Bevölkerung gefunden hat. Man vermutet, dass in den anderen Fällen Reassortanten entstehen, für die der menschliche Organismus wenig empfänglich ist. Neben diesen drastischen Veränderungen bei neuen Pandemien durch den *antigenic shift* verändern sich die Oberflächenproteine der Influenzaviren jedoch auch im Verlauf einer Pandemie und in der Zeit danach. Diese Varianten betreffen vor allem die Bereiche der HA- und NA-Proteine, die für die Bindung neutralisierender

Antikörper verantwortlich sind. Im HA-Protein sind diese vor allem in den Aminosäureregionen lokalisiert, welche die in einer Grube verborgene Rezeptorbindestelle umgeben (► Abbildung 16.7B und C). Sie beruhen auf *Punktmutationen* in den für sie codierenden Genabschnitten. Die RNA-abhängige RNA-Polymerase der Influenzaviren hat eine hohe Fehlerrate beim Einbau der komplementären Basen beim Replikationsprozess und inkorporiert mit einer Häufigkeit von etwa 10^{-3} falsche Basen in die RNA-Stränge, die statistisch über das ganze Genom verteilt sind. Die Antikörper, die im Infektionsverlauf gebildet werden, üben einen Selektionsdruck aus. Dadurch werden im Verlauf einer Epidemie Viren selektiert, bei denen die oberflächenexponierten Bereiche der Proteine verändert sind, welche die Bildung einer neutralisierenden Immunreaktion induzieren. Das Virus kann so über längere Zeit in einer Bevölkerung persistieren. Diesen Mechanismus der Veränderung antigener Proteinbereiche durch Punktmutationen bezeichnet man als *antigenic drift*. Während die antigenetischen Veränderungen bei den humanpathogenen Viren häufig auftreten, sind die Influenzaviren aus Pferden relativ stabil und werden durch *antigenic drift* kaum verändert.

Entstehung der humanen Influenzavirusstämme Das Virus der *Asiatischen Grippe* von 1957 unterschied sich von dem Virus der Pandemie, die 1918/1919 auftrat, in insgesamt *drei Genomsegmenten*: *PB1*, *HA* und *NA*. Vergleichende Untersuchungen ergaben, dass diese Segmente ursprünglich aus einem Enteninfluenzavirus stammten. Die übrigen entsprachen denjenigen des Influenzavirus der Spanischen Grippe, sie wurden also in die neue Reassortante übernommen (► Tabelle 16.10). Im Virus der *Hongkong-Grippe* von 1968 waren erneut *zwei Segmente* ausgetauscht; der für *Hämagglutinin* und der für das *PB1-Protein* codierende Abschnitt unterschieden sich vom Virus der Asiatischen Grippe. Auch in diesem Fall schienen sie von einem Enteninfluenzavirus abzustammen. Das *NA*-Segment wurde in dieser Reassortante nicht ausgetauscht. Das *H3N2*-Virus der Hongkong-Grippe zirkuliert zusammen mit den *H1N1*-Viren der Russischen und inzwischen auch der Neuen Grippe bis heute in der menschlichen Bevölkerung und kann – mit Veränderungen durch *antigenic drift* – bis heute aus Grippepatienten isoliert werden.

Zwei Hypothesen werden für die Entstehung des Virus der *Spanischen Grippe* von 1918 vorgeschlagen: Eine besagt, dass es sich nicht um eine Reassortante handelt, sondern um ein Enteninfluenzavirus, das zu Beginn dieses Jahrhunderts in den USA auf Schweine übertragen wurde und sich unter *Beibehaltung aller acht Segmente* durch kontinuierliche Veränderungen über

Punktmutationen an diesen Wirt erfolgreich adaptierte. Dieses Virus scheint in der Folge zwischen Menschen und Schweinen zirkuliert zu sein, bis sich eine Mutante mit einem hohen pathogenen Potenzial entwickelte, die ausgehend von Fort Dix in den USA mit den amerikanischen Soldaten am Ende des Ersten Weltkriegs nach Europa importiert wurde und hier die schwere Pandemie der Spanischen Grippe (1918/1919) verursachte. Die andere Hypothese geht von der Entstehung auch dieses Virussubtyps in der Provinz Guangdong in Südchina aus. Ein Virus vom Subtyp *H1N1* war hier offenbar schon ab 1907 in der chinesischen Bevölkerung zirkuliert und sich an den Menschen als Wirt adaptiert. Von chinesischen Arbeitern, die vom amerikanischen Militär zum Aufbau von Lagern in Frankreich und Spanien beschäftigt wurden, ist das *H1N1*-Virus dann nach Europa importiert worden. Inzwischen hat man Menschen, die 1918 an der Influenzavirusinfektion verstorben und in Alaska und Spitzbergen im Bereich des Dauerfrostbodens beerdigt worden waren, exhumiert. Aus dem Biopsiematerial der Leichen konnte man durch Einsatz der Polymerasekettenreaktion die Virusgenomsegmente amplifizieren und sequenzieren. Auch fanden sich mit Formalin fixierte Organproben von Patienten, die 1918 an der Spanischen Grippe verstorben waren. Die Sequenzanalyse der *HA*-Gene ergab wie erwartet den Subtyp *H1* mit den Aminosäurevariationen, die auf eine Anpassung des Virus an Säugetiere deuten. Die Adaptation an den Menschen als Wirt durch *antigenic drift* war jedoch zum Zeitpunkt des Todes der Patienten noch nicht sehr weit fortgeschritten. Das Virus des Subtyps *H1N1* und die durch *antigenic drift* veränderten Varianten ließen sich bis 1956 in der Bevölkerung nachweisen. Danach war es 21 Jahre lang anscheinend verschwunden, bis es in einer Variante 1977 als Erreger der *Russischen Grippe* in Nordchina wieder auftrat. Diese Virusvariante entsprach exakt einem Isolat, das 1950 aus einem Patienten gewonnen worden war. Die Herkunft des Virus von 1977 ist nach wie vor rätselhaft. Die komplette Identität mit dem Virus von 1950 – auch eine Variation durch *antigenic drift* war nicht zu beobachten – lässt aber darauf schließen, dass dieses Virus die Zeit zwischen 1950 und 1977 in „eingefrorenem“ Zustand überdauert hat. Es gibt Spekulationen, dass es sich um einen versehentlich aus einem russischen Institut freigesetzten Laborstamm handelt. Andererseits scheint neben Antigen-Shift und -Drift noch ein dritter Mechanismus für das Auftreten von Pandemien verantwortlich zu sein: Man beobachtet, dass die humanen Influenza-A-Virussubtypen nach längerer Zeit in nahezu unveränderter Form wieder auftreten können und dann schwere Pandemien verursachen. Dies geschieht überwiegend nach einem Zeitraum von etwa 60 bis 68 Jahren („68er

Regel“) und ist wohl durch das allmähliche Verschwinden der spezifischen Immunität in der Bevölkerung bedingt. So könnten die Pandemien von 1900 und 1968 von H3N2 und die von 1918 und 1977 von H1N1 verursacht worden sein.

Seit dem Frühjahr 2009 entwickelte sich eine neue Pandemie im Menschen, die durch Influenza-A-Viren des Subtyps H1N1 verursacht wird. Diese neue H1N1-Pandemie nahm ihren Ausgang in Mexiko; sie wurde deshalb einige Zeit auch als „Mexikanische Grippe“ bezeichnet und wird jetzt aber Neue Grippe bzw. Schweinegrippe genannt (► Exkurs Die Neue Grippe). Phylogenetische Analysen zeigen, dass es sich um eine Reassortantenbildung aus menschlichen, porcinen und aviären Influenza-A-Viren handelt. Von dem bis Ende 2009 ebenfalls zirkulierenden H3N2-Virus der Hongkong-Grippe blieb das Segment 2 erhalten, das für die Synthese des PB1-Proteins verantwortlich ist (► Tabelle 16.10). Die Segmente 1 und 3 (codierend für PB2 und PA) sind spezifisch für aviäre Influenza-A-Viren, die restlichen Segmente lassen sich von Schweine-Influenza-A-Virusisolationen ableiten. Vermutlich hat eine Vermischung der viralen Genomsegmente in Schweinen auf dem amerikanischen Kontinent stattgefunden; entsprechende Reassortanten konnte man schon vor 2009 aus Schweinen in Argentinien und Canada isolieren. Im

April 2009 kam es dann in Zentralamerika zu Übertragungen auf Menschen. Seitdem hat sich dieses neue Influenza-A-Virus H1N1 über alle Kontinente ausgebreitet und wurde im Juni 2009 von der WHO zu einer neuen Grippepandemie erklärt. Die Symptome, welche mit diesen neuen H1N1-Infektionen verbunden sind, erweisen sich bisher als relativ mild; bis Ende November 2009 wurden von der WHO aber weltweit bereits mehr als 6770 Todesfälle im Zusammenhang mit der Pandemie der neuen H1N1-Grippe registriert. Auch in Mitteleuropa nahm die Zahl der registrierten Infektionen der neuen H1N1-Viren im Spätherbst 2009 deutlich zu: Über 50 Prozent der registrierten Influenza-A-Virusinfektionen waren in Deutschland, Österreich und der Schweiz Ende November 2009 durch das neue H1N1-Pandemievirus verursacht, in Deutschland wurden 27 Todesfälle verzeichnet.

1997 wurden in Hongkong 18 Menschen mit einem bis dahin nicht als humanpathogen beschriebenen Influenzavirus infiziert. Es handelte sich um ein hochpathogenes Geflügelinfluenzavirus mit dem Subtyp H5N1. 30 Prozent der Infizierten starben, die Infektion verbreitete sich jedoch in der Bevölkerung nicht. Wie bereits beschrieben, könnte hierfür unter anderem die Spezifität des Geflügelvirus für Sialylsäuren in $\alpha(2,3)$ -glycosidischer Bindung verantwortlich sein. Um die



Der aktuelle Umgang mit der Vogelgrippe in Mitteleuropa

Seit 1997 waren im Rahmen der Geflügelpestepidemie in Südostasien über 200 Influenza-A-Virusinfektionen mit dem Subtyp H5N1 bei Menschen zu beobachten, die mit einer ungewohnt hohen Mortalität einhergingen. Die im Menschen hoch virulenten H5N1-Viren schürten insbesondere in den westlichen Industrieländern die Sorge, dass, zum Beispiel durch Mutationen, sich die H5N1-Viren im Rahmen des *antigenic drift* weiter verändern könnten, verbunden mit einer fortschreitenden Anpassung an menschliche Wirte. Die Gefahr, dass das „Vogelgrippe“-Virus die Basis für ein neues hochvirulentes Pandemievirus sein könnte, bedingte ein Importverbot für lebendes und totes Geflügel aus Endemieländern und ein Aufstallungsgebot für Wirtschaftsgeflügel während der Vogelflugzeiten im Herbst. Im Rahmen der Pandemieplanung wurden von den Regierungen der Länder große Mengen von Neuraminidasehemmstoffen eingelagert, ausreichend zur Therapie von mindestens zehn Prozent der Bevölkerung. Sie sollen im Ernstfall zur Eindämmung und Abriegelung der Infektionen eingesetzt werden. Auch in einer großen Zahl von Privat-

haushalten werden diese antiviralen Therapeutika für den Ernstfall ungezielt vorgehalten. Angesichts der Tatsache, dass das Medikament nur zur kurzzeitigen Prophylaxe im Pandemiefall geeignet ist, seine Wirkung nur bei Behandlung im Frühstadium der Infektion sinnvoll ist und eigentlich den positiven diagnostischen Nachweis der Influenzainfektion voraussetzt, muss diese Vorgehensweise sehr kritisch diskutiert werden. Der falsche Einsatz der Neuraminidasehemmstoffe birgt eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass sich durch den entstehenden Selektionsdruck, ähnlich wie bei anderen therapierbaren Virusinfektionen, resistente Isolate ausbilden und verbreiten könnten. Ab Herbst 2005 wurden tatsächlich sowohl H5N1- wie auch andere Influenzavirusisolate beschrieben, deren Infektion mit Neuraminidasehemmstoffen nicht beeinflusst werden konnte. Daher ist zu befürchten, dass der ungezielte Einsatz ohne ärztliche Indikation dazu führt, dass diese antivirale Chemotherapie langfristig wirkungslos und im Ernstfall nicht mehr zur Verfügung stehen wird.

Gefahr einer neuen Pandemie zu bannen, beschloss man jedoch, alles Geflügel in Hongkong zu töten. Trotz dieser Maßnahme breiteten sich ab 2003 Influenza-A-Viren des Subtyps H5N1 im Geflügel Südostasiens und später auch über Ost- nach Mitteleuropa und Afrika aus.

Die hier beschriebenen Mechanismen der genetischen Neuordnung und der damit verbundenen Entstehung neuer Virussubtypen wurden überwiegend bei Influenza-A- und in geringerem Ausmaß bei Influenza-C-Viren gefunden. Inwieweit sie bei Influenza-C-Viren zur Entstehung von Genotypen mit unterschiedlicher Pathogenität beitragen, ist unklar. Direkte Reassortierung zwischen zwei humanpathogenen Virusstämmen in einer infizierten Person wurde in Einzelfällen beim Influenza-C-Virus beschrieben. Influenza-B-Viren, die man bisher nur beim Menschen nachgewiesen hat, bilden keine Reassortanten.

Klinik

Die *echte Grippe* ist eine akut einsetzende Erkrankung der Atemwege, die mit sehr ausgeprägten Allgemeinsymptomen einhergeht und sich dadurch deutlich vom banalen grippalen Infekt unterscheidet. Abhängig vom Alter der Betroffenen und von bestehenden Grundkrankheiten können schwere Komplikationen entstehen, die – wenn auch selten – innerhalb weniger Tage zum Tod führen können. Die Inkubationszeit ist kurz, sie liegt zwischen einem und fünf Tagen. Vor allem bei Erwachsenen kann die Infektion inapparent, das heißt ohne Erkrankungsanzeichen, verlaufen. Hauptsymptom ist hohes, völlig abrupt einsetzendes Fieber (bis 41 °C) und ausgeprägtes allgemeines Krankheitsgefühl. Dazu kommen Halsschmerzen, unproduktiver Husten und starke Kopf- und Gliederschmerzen. Die Symptome halten in der Regel drei bis sieben Tage an. Bei Kindern ist die Symptomatik ähnlich (vor allem hohes Fieber, Halsschmerzen und Husten). Hinzu können allerdings eine virale Mittelohrentzündung, starke Leibschmerzen, Diarrhoe und Erbrechen kommen, bei kleineren Kindern auch Pseudo-Croup und Bronchiolitis. Risikogruppen stellen Personen mit bestehenden chronischen Erkrankungen dar, bei denen es zu ausgeprägten Verschlimmerungen der Grundkrankheit kommen kann. Hier wären beispielsweise Asthma, chronische Bronchitis, zystische Fibrose, Diabetes mellitus, Herz- und Kreislauferkrankungen zu nennen. Resultierende Komplikationen sind akute Bronchitis, Pseudo-Croup (Kleinkinder), primäre virale Pneumonie (Lungenentzündung), Herzmuskel- und Herzbeutelentzündung (Myo- und Perikarditis), sowie selten neurologische, muskuläre und die Niere betreffende Komplikationen. Die primäre virale interstitielle (oft hämorrhagische)

Lungenentzündung tritt auch häufig bei älteren (über 65 Jahre) Patienten auf und kann bis zu zwei Wochen lang andauern. Lungenentzündungen können auch sekundär durch bakterielle Überinfektionen, unter anderem durch *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* und *Haemophilus influenzae* entstehen; letzteres gab der Erkrankung ihren Namen. Bei immunsupprimierten Personen wird das Virus deutlich länger ausgeschieden, sodass ein hohes Risiko von nosokomialer Übertragung entsteht. Das heißt, dass andere Patienten beispielsweise in Krankenhäusern oder Arztpraxen angesteckt werden. Eine weitere Risikogruppe stellen Schwangere dar, bei denen neben Infektionen des Fetus auch ein erhöhtes Todesrisiko besteht. Insgesamt schwerere Verläufe werden auch bei erstmaligem Kontakt mit einem Pandemievirus bei Personen ohne Grunderkrankung gefunden.

Influenza-B-Virusinfektionen verlaufen sehr ähnlich. Tödliche Erkrankungen mit primärer viraler Lungenentzündung sind jedoch seltener, sekundäre bakterielle Pneumonien dagegen häufig. Bei Kindern können Influenzaviren das *Reye-Syndrom* hervorrufen, das mit massiven Gehirn- und Leberschädigungen einhergeht. Es tritt allerdings nur dann auf, wenn zur Behandlung der Grippe Aspirin eingesetzt wird.

Infektionen des Menschen mit den hochpathogenen Varianten der aviären H5N1-Viren verlaufen deutlich anders: Sie beginnen zunächst mit den üblichen Influenzasymptomen (siehe oben), gehen dann aber in schwereren Erkrankungen des Respirationstrakts wie virale Pneumonien oder ARDS (*acute respiratory distress syndrome*) über und enden häufig mit lebensbedrohenden Komplikationen bis hin zu Multiorganversagen. Die schweren systemischen Verläufe können die Leber, den Verdauungstrakt, das Knochenmark oder die Niere betreffen. Bakterielle Überinfektionen spielen bei H5N1-Infektionen des Menschen keine Rolle. Die Mortalität liegt deutlich über 50 Prozent.

Der Verlauf der Influenza in Schweinen und Pferden ähnelt dem der Menschen. Sie manifestiert sich dort als hochakute fieberhafte Erkrankung, die mit respiratorischen Symptomen einhergeht und sich in einem betroffenen Bestand schnell ausbreitet. Die Morbidität ist hoch, die Mortalität dagegen sehr gering.

Beim Geflügel ist das klinische Bild abhängig vom Virustyp und von der Geflügel- oder Vogelart. Puten und Hühner sind hochempfindlich für die hochpathogenen H5- und H7-Viren und entwickeln ein akutes, dramatisches, systemisches Krankheitsbild mit hoher Letalität. Andere Spezies sind ebenfalls empfänglich, vor allem Schwäne und verschiedene Taucherarten erkranken regelmäßig. Im klassischen Wassergeflügel (Enten, Gänse) verläuft die Infektion in aller Regel milder.



Der Wirtstropismus der Influenzaviren basiert auf speziesspezifischen Unterschieden im Glycosylierungsmuster

Für die Unterschiede in der Spezifität der Rezeptorbindung der verschiedenen Influenzavirussubtypen sind speziesspezifische Glycosylierungsmuster der Zellproteine verantwortlich. So findet man bei den *Mucinen* (► Abschnitt 15.3.5), hoch glycosylierte Proteine im schützenden Schleim des menschlichen Lungenepithels, hauptsächlich Sialylsäuren in $\alpha(2,3)$ -glycosidischer Bindung als endständige Zuckerreste. Haben die Influenzaviren HA-Subtypen mit dieser Spezifität, dann binden sie sich an die Zuckermodifikationen in der Schleimschicht und gelangen deswegen nicht zu ihren Wirtszellen, den Epithelzellen der Lunge, auf denen die $\alpha(2,6)$ -Bindungsform überwiegt. Daher findet bei den humanpathogenen Subtypen eine Selektion für Viren mit HA-Typen (H1 bis H3) statt, die sich bevorzugt an Sialylsäuren in $\alpha(2,6)$ -glycosidischer Bindung anlagern. In Vögeln und Pferden ist die Situation hingegen umgekehrt: In den Schleimbereichen des Vogeldarms kommt sehr häufig $\alpha(2,6)$ -glycosidisch gebundene Sialylsäure vor. Auch findet man diese Version bevorzugt als Modifikation von Proteinen im Respirationstrakt bei den Pferden, wohingegen hier auf der Zelloberfläche die $\alpha(2,3)$ -Bindung vorherrscht.

In Schweinen findet man beide Glycosylierungstypen – sie nehmen also gewissermaßen eine Zwischenstellung zwischen Menschen sowie Pferden und Vögeln ein. Der Selektionsdruck wirkt in Vögeln jedoch anders als bei den humanpathogenen Virussubtypen auf die Viren, deren HA-Proteine mit großer Affinität $\alpha(2,3)$ -gebundene *N*-Acetylneuraminsäuren erkennen. Wahrscheinlich konnte sich deshalb das Influenzavirus des Subtyps H5N1, das 1997 in Hongkong bei Infektionen gefunden wurde, in der menschlichen Population nicht verbreiten. Von den Vögeln ist dieses Virus ohne weitere Adaptation an säugetierspezifische Besonderheiten direkt auf den Menschen übertragen worden. Es hatte mit dem Subtyp H5 die Rezeptorspezifität für Sialylsäuren in $\alpha(2,3)$ -glycosidischer Bindung. Man fand insgesamt nur 18 damit infizierte Patienten. Dieses Virus ist ursprünglich als aviäres Influenzavirus im Geflügel in Hongkong aufgetreten und hat Enten, Puten und Hühner infiziert. Der Typ H5 hat eine polybasische Sequenz vor der Spaltstelle, die für aviäre Influenzaviren typisch ist und eine systemische Infektion begünstigt (► Abschnitt 16.1.3).

Neben den hochpathogenen Influenzaviren gibt es viele niedrigpathogener Stämme, die ein mildes Krankheitsbild induzieren. Da aus diesen Viren durch Mutation der Spaltstelle des HA₀-Proteins jederzeit grundsätzlich hochpathogene Geflügelpestviren entstehen können, werden auch diese Infektionen in Europa bekämpft.

Pathogenese

Influenzaviren gelangen bei Menschen und Säugetieren über Tröpfcheninfektion in den Organismus und infizieren durch Bindung des HA-Proteins an endständige Neuraminsäurereste auf den *Epithelzellen der Mund-, Nasen- und Rachenschleimhaut*. Beim Menschen überwiegt in diesem Organbereich die Verknüpfung der Sialylsäure in $\alpha(2,6)$ -glycosidischer Bindung. $\alpha(2,3)$ -glycosidische Bindungen sind beim Menschen im oberen Respirationstrakt nicht vorhanden, kommen aber in den unteren Lungenbereichen vor. Diese biochemischen Unterschiede im menschlichen Respirationstrakt sind ein Grund, warum sich Übertragungen von Influenzaviren des Geflügels (H5, H7) auf den Menschen nur sehr selten in einer Infektion manifestieren. Die Bevorzugung der $\alpha(2,6)$ -glycosidischen Bindung erlaubt keine effiziente Mensch-Mensch-Übertragung der aviären

Virustypen. Allerdings besteht die Gefahr, dass sich die Viren durch Mutationen im für das Hämagglutinin H5 codierenden Segment verändern und dabei an den Menschen als Wirtsorganismus adaptieren. Sollte bei solch einer Adaptation die bislang hohe Pathogenität für den Menschen mit einer Todesrate von über 50 Prozent der Infizierten erhalten bleiben, dann bestände die Gefahr einer neuen, schwer verlaufenden Pandemie mit Influenzaviren H5N1 in der menschlichen Bevölkerung.

Vom oberen Respirationstrakt breiten sich die Viren in den *unteren Respirationstrakt* aus; virämische Phasen, in welchen das Virus im Blut vorhanden ist, kommen bei Infektionen des Menschen mit Viren der Subtypen H1, H2 und H3 nur selten vor. Zellzerstörungen sind in den *Flimmerepithelien* und den *schleimproduzierenden Schichten* aller Bereiche des Respirationstraktes zu beobachten, eine verdickte, hyalinisierte Basalschicht in Verbindung mit submucösen, ödematösen Anschwellungen wird exponiert. In diesen Bereichen findet man Infiltrate von neutrophilen und mononucleären Zellen. Bildet sich eine primäre, interstitielle Lungenentzündung aus, wird das Virus auf die Zellen des Lungenparenchyms übertragen. Man findet starke *Anschwellungen der Alveolarwände*, deren Epithel durch die Zellzerstörung häufig vollkommen abgetragen ist. In Folge der



Angeborene Abwehr gegen Influenzaviren und andere Negativstrang-RNA-Viren

Die Wirtsabwehr gegenüber Influenzaviren beruht auf einem intrazellulären Abwehrprotein, dessen Synthese früh im Infektionsgeschehen durch Interferon- α und - β zusätzlich zu der 2'-5'-Oligoadenylatsynthese und der Proteinkinase PKR (► Kapitel 8) induziert wird. Der erste Vertreter dieser sogenannten *Mx-Proteine* (Mx steht für Myxovirusresistenz) wurde ursprünglich bei Mäusen gefunden, die eine hochgradige interferonvermittelte Resistenz gegenüber experimenteller Influenzavirusinfektion zeigten. Ähnliche Proteine wurden in der Folge auch beim Menschen und anderen Wirbeltieren nachgewiesen. Mx-Proteine gehören zu der Superfamilie der großen GTPasen (80–100kD). Dabei handelt es

sich vermutlich um *mechano-chemische Enzyme*, die wie beispielsweise das *Dynamine* an intrazellulären Transportprozessen beteiligt sind. Das MxA-Protein des Menschen besitzt eine antivirale Aktivität gegen Influenzaviren, gegen Thogotoviren, gegen eine Reihe von Paramyxoviren (wie Masern) sowie gegen Vertreter der Bunyaviren (Hantaviren, Rift-Valley-Fieber-Virus, La Crosse-Virus; ► Kapitel 16.2). Die genaue Wirkungsweise ist noch nicht vollständig geklärt. Die MxA-GTPase scheint die Nucleocapside oder nucleocapsidähnliche Strukturen dieser Viren zu erkennen und durch Störung des intrazellulären Transports und Ablagerung in Komplexen unschädlich zu machen.

Nekrosen entstehen Blutungen und Risse in den Alveolar- und Bronchiolenwänden. In diese Bereiche wandern vor allem mononucleäre Zellen ein. Influenzaviren verfügen mit dem NS1-Protein über die Möglichkeit, die Interferon- α vermittelten Immunreaktionen weitgehend auszuschalten. Auch ist für das PB1-F2-Protein bekannt, dass es bevorzugt in Alveolarmakrophagen und anderen immunologisch aktiven Zellen Apoptose auslösen kann. In wie weit diese Eigenschaften die bakterielle Überinfektionen fördern und so die Pathogenese der Influenzavirusinfektion *in vivo* beeinflussen, ist noch nicht endgültig geklärt. Im Unterschied zu den Möglichkeiten, der Basisimmunantwort zu entgehen, verfügen die Viren auch über Mechanismen, diese in besonderer Weise zu induzieren: Neue Arbeiten zeigten, dass die einzelsträngigen RNA-Segmente der Influenzaviren als immunologische Erkennungsmoleküle (*pathogen associated molecular pattern*, PAMP) und als Ligand für die toll-like-Rezeptoren 7 beziehungsweise 8 (TLR-7/-8) fungieren. Dem unspezifischen Immunsystem wird damit signalisiert, dass sich im Organismus eine Virusinfektion ereignet.

Bei bakteriell bedingten Lungenentzündungen fördern bakterielle Proteasen von *Staphylococcus aureus* und anderen Erregern die Spaltung des HA₀-Proteins und steigern damit die Infektiosität des Influenzavirus; bakterielle Coinfektionen können so synergistisch zur Entstehung von Lungenentzündungen beitragen. Dies erklärt auch die gute therapeutische Wirkung von Antibiotika bei der Behandlung der Influenza.

Immunreaktion und Diagnose

Im Infektionsverlauf werden IgM-, IgA- und IgG-Antikörper gebildet. Influenzaviren induzieren eine anhaltende Immunreaktion, die vor Reinfektionen mit dem gleichen Virustyp relativ effektiv schützt. Die neutralisierenden IgG- und IgA-Antikörper sind gegen die HA-Proteine gerichtet, vor allem gegen fünf Epitope, die sich auf der Oberfläche des Proteins in Nachbarschaft zur Rezeptorbindungsstelle befinden. Auch Antikörper gegen die Neuraminidase können die Ausbreitung der Infektion im Organismus eingrenzen. Die Tatsache, dass 1977 beim erneuten Auftreten des Influenzavirus H1N1 mit der Russischen Grippe ältere Personen weitgehend geschützt waren, die mit diesem Virustyp erstmals im Rahmen der Pandemie von 1918/19 infiziert worden waren, weist auf die Effektivität des langanhaltenden, virustypspezifischen Schutzes hin.

Die Eliminierung des Virus aus dem Organismus geschieht vor allem durch *cytotoxische T-Zellen*, die Oligopeptide des NP-Proteins in Kombination mit MHC-Klasse-I-Proteinen erkennen. Da das NP-Protein bei allen Influenza-A-Viren relativ hoch *konserviert* ist, liegen nach der Erstinfektion CD8⁺-Gedächtniszellen vor, die bei Folgeinfektionen schnell reaktiviert werden können und so zu einer raschen Eliminierung der virusinfizierten Zellen beitragen. Neben dem NP-Protein befinden sich auch in den Sequenzen der M-, NS- und der Polymeraseproteine T-Zell-Epitope. Virusspezifische CD4⁺-T-Helferzellen sind nicht an der direkten Eliminierung infizierter Zellen beteiligt, sondern für die *Induktion und Verstärkung der humoralen Immunantwort* und die Antikörperbildung wichtig. Daneben

sezernieren sie, wie auch die bereits zu Infektionsbeginn vorhandenen *aktivierten Makrophagen* und *natürlichen Killerzellen*, Interferone und andere Cytokine. Diese fördern die Einwanderung weiterer T-Zellen und Makrophagen in die infizierten Gewebe; *Interferon- γ* ist wohl für die verstärkte Synthese von MHC-Klasse-I-Proteinen verantwortlich, die im Komplex mit viralen Peptiden auf der Zelloberfläche die Erkennung durch cytotoxische T-Zellen fördern. Influenzaviren induzieren auch die Synthese von *Interferon- α* und β , allerdings wird diesem Vorgang die Aktivität des viralen NS1-Proteins entgegengesetzt. Es hemmt durch seine Bindung an die doppelsträngigen RNA-Segmente, die während der Replikation entstehen, die Induktion der Expression der *Interferon- α* und β -Gene.

Die Diagnose einer frischen Infektion erfolgt bei Menschen und Tieren durch die Bestimmung von IgM- oder IgA-Antikörpern im Serum, Virusisolierung aus Rachenspülwasser und Nasentupferproben sowie durch den Nachweis von Virusproteinen mittels verschiedener Schnellteste. Eine andere Möglichkeit ist der Nachweis viraler Nucleinsäure durch die Polymerasekettenreaktion in Materialien aus dem Respirationstrakt. Bei der Polymerasekettenreaktion muss darauf geachtet werden, dass sowohl Influenza A einschließlich des Subtyps H5N1 wie Influenza B erkannt werden. IgG-Antikörper sind Anzeichen für eine abgelaufene Infektion, vor allem in der Nasenschleimhaut sezernierte IgA₁-Antikörper schützen vor Reinfektionen. Influenzaviren können in einer Reihe von primären und immortalisierten Nierenzellkulturen (MDBK- oder MDCK-Zellen) aus unterschiedlichen Wirten (Hunden, Affen, Kälber, Hamster) unter Ausbildung eines cytopathischen Effekts gezüchtet werden. Infektiöse Viren werden nur gebildet, wenn die Zellen ausreichende Mengen von trypsinähnlichen Enzymen produzieren, die das HA₀-Protein spalten können. Neben diesen Systemen ist die Viruszüchtung in *bebrüteten Hühnereiern* möglich. Diese Methode wird auch gegenwärtig noch für die Impfstoffherstellung genutzt.

Therapie und Prophylaxe

Amantadin und *Rimantadin* können therapeutisch zur Prophylaxe und zur Behandlung der Influenza-A-Virusinfektion angewandt werden; Influenza-B- und -C-Viren sind nicht sensibel. Beide Substanzen sind *tricyclische, primäre Amine* (► Abbildung 9.1), welche die Virusreplikation auf der Stufe der Partikelaufnahme und der Freisetzung der Nucleocapside im Cytoplasma hemmen. Angriffspunkt ist das *A/M2-Protein*, das Protonenkanäle in der Virusmembran ausbildet. Veränderungen der Aminosäuresequenz in der hydrophoben

Transmembranregion dieses Proteins treten bei Behandlung schnell auf. Insbesondere Aminosäureaustausche an den Positionen 26, 27, 30, 31 oder 34 des Proteins führen zu resistenten Virusstämmen. Deswegen bleibt die Anwendung von Amantadin auf Hochrisikogruppen (beispielsweise in Altersheimen) beschränkt. Außerdem befinden sich Hemmstoffe der viralen *Neuraminidase* (Zanamivir, Oseltamivir) in Anwendung. Sie werden innerhalb von 48 Stunden nach erfolgter und wenn möglich nachgewiesener Infektion mit Influenzaviren eingesetzt, um die weitere Ausbreitung des Virus im Organismus in der Frühphase der Infektion einzudämmen (► Kapitel 9). Neuraminidasehemmer verhindern somit nicht die Infektion, sondern schwächen sie ab; sie sind nicht für längere, prophylaktische Anwendungen gedacht. Eine Ausnahme, die die Gabe von Neuraminidasehemmern über längere Zeit rechtfertigt, ist der Einsatz bei *Riegel-Abschirmungen* in Zusammenhang mit möglichen Pandemiefällen; hier soll versucht werden, in den primären, aber auch in potenziell weiteren Kontaktpersonen Übertragungen zu verhindern. Aus mit Neuraminidasehemmstoffen behandelten Patienten, dabei handelte es sich zuerst überwiegend um immunsupprimierte Transplantatempfänger, konnte man resistente Virusmutanten isolieren. Im Rahmen der Winterepidemie 2008/2009 zeigte sich aber, dass die überwiegende Mehrheit der Influenzavirusisolate resistent gegenüber Neuraminidaseinhibitoren war. Die dafür verantwortlichen Mutationen bewirken Aminosäureaustausche im aktiven Zentrum der Neuraminidase und betreffen bevorzugt die Positionen 119, 274 und 292 (E119V, E119D, H274Y, R292K). Mutanten des Subtyps H5N1, deren Neuraminidasen durch den Ersatz der Aminosäure Histidin an Position 274 durch Tyrosin Resistenzen gegen diese Hemmstoffe aufweisen, traten erstmals im Herbst 2005 auf. Außerdem konnte gezeigt werden, dass auch Veränderungen im für das HA₁-Protein codierenden Genbereich zur Entstehung von Virusvarianten beitragen, die gegen Hemmstoffe der Neuraminidase resistent sind: Die Veränderungen, beispielsweise in der Aminosäureposition 226 (Val → Ile), bewirken, dass sich das Hämagglutinin mit verringerter Affinität an den Rezeptor bindet; dies macht die Funktion der Neuraminidase entbehrlich.

Impfstoffe stehen gegen Influenza-A- und -B-Virusinfektionen zur Verfügung. Es handelt sich in Europa um *abgetötete Viren*, die in bebrüteten Hühnereiern oder Zellkulturen gezüchtet werden. Wegen der hohen Variabilität der Influenzaviren und der geringen Immunogenität der Impfstoffe müssen die Impfstoffe jährlich an die aktuell zirkulierenden Virussubtypen beziehungsweise Subtypvarianten angepasst werden. Dementsprechend gibt die *Ständige Impfkommision des Robert Koch-Instituts*



Bekämpfung der H5N1-Infektionen als Tierseuche

Die Tierseuchenbekämpfung in den Mitgliedsstaaten der Europäischen Union ist harmonisiert. Das bedeutet, dass bestimmte Tierseuchen in allen Mitgliedsstaaten mit den gleichen Maßnahmen bekämpft werden. Im Falle der Geflügelpest durch hochpathogene aviäre Influzaviren (HPAIV) der Subtypen H5 und H7 verfolgt die EU eine *Nichtimpfpolitik* und verbietet grundsätzlich die Impfung von Geflügel. Ausnahmen sind zwar grundsätzlich möglich, ziehen aber rigorose Handelsbeschränkungen nach sich. Die Bekämpfung

eines Geflügelpestausbuchs in einem Nutztierbestand geschieht durch Tötung aller Vögel in diesem Bestand und in den Beständen in einem Umkreis von drei Kilometern (Sperrbezirk). Beim Nachweis von H5N1-Influzaviren bei Wildvögeln wird in der Regel um den jeweiligen Fundort ein Sperrbezirk errichtet, in dem das Hausgeflügel aufgestellt werden muss und Katzen und Hunde nicht frei laufen dürfen.

(STIKO) basierend auf den Empfehlungen der WHO und der europäischen Kommission Vorgaben an die Zusammensetzung des neuen saisonalen Impfstoffes. Der Impfstoff gegen die saisonale Influenza für Deutschland 2009/2010 enthält die Stammzusammensetzung der aktuell zirkulierenden Varianten der Influenza-A-Viren H1N1 (Brisbane/59/2007), H3N2 (Brisbane/10/2007) und Influenza B (Brisbane/60/2008). Beim Ausbruch einer Pandemie wird der Impfstoff dem neuen Virussubtyp möglichst schnell angepasst; der neue Impfstoff gegen das Influzavirus der neuen H1N1-Pandemie kam etwa sechs Monate nach der Charakterisierung des Erregers im Herbst 2009 auf den Markt. Das zeigt, dass trotz der molekularbiologischen Methoden, die zu einer schnellen und effizienten Charakterisierung des neuen Pandemievirus geführt haben, technische und logistische Probleme die Bereitstellung eines neuen Impfstoffes für Milliarden von Menschen behindern und nur schwer zu bewältigen sind.

Außer diesen Totimpfstoffen ist in einigen Ländern (beispielsweise in den USA) eine lebend attenuierte, kälteadaptierte Vakzine im Einsatz, die aber in Europa bisher nicht zugelassen ist. Diese kann über die Atemwege appliziert werden und hier eine lokale Immunität ausbilden.

Bei den tierpathogenen Influzaviren sind Impfstoffe verfügbar, die theoretisch zum Schutz des Geflügels eingesetzt werden könnten. Die Impfung des Geflügels wird aber in den Ländern der EU grundsätzlich nicht durchgeführt. Ausnahmen sind für Zootiere oder bestimmte Nutzungsrichtungen möglich. Jedoch wird diese Ausnahmemöglichkeit in Zeiten, in denen H5N1-Infektionen vorkommen, sehr kontrovers diskutiert. Bei Schweinen ist die Impfung mit bivalenten Totimpfstoffen (H1N1 und H3N2) Routine. Ebenso gibt es wirksame Totimpfstoffe gegen die Pferdeinfluenza. Sie enthalten inaktivierte Viren der Subtypen H7N7 und

H3N8. Die Immunitätsdauer ist kurz, Wiederholungsimpfungen sind in halbjährlichen oder jährlichen Abständen notwendig.

16.3.6 Weiterführende Literatur

- Bullough, P. A.; Hughson, F. M.; Skehel, J. J.; Wiley, D. C. *Structure of influenza virus hemagglutinin at the pH of membrane fusion*. In: *Nature* 371 (1994) S. 37–43.
- Chen, W.; Calvo, P. A.; Malide, D.; Gibbs, Y.; Schubert, U.; Bacik, J.; Basta, S.; O'Neill, R.; Schickli, J.; Paleso, P.; Henklein, P.; Bennink, J. R.; Yewdell, J. W. *A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death*. In: *Nature Medicine* 7 (2001) S. 1306–1312.
- Cohen, J. *Pandemic influenza. Straight from the pig's mouth: swine research with swine influenzas*. In: *Science* 325 (2009) S. 140–141.
- Cohen, J.; Enserink M. *Swine flu. After delays, WHO agrees: the 2009 pandemic has begun*. In: *Science* 324 (2009) S. 1496–1497.
- Conenello, G. M.; Palese P. *Influenza A virus PB1-F2: a small protein with a big punch*. In: *Cell Host Microbe* 2 (2007) S. 207–209.
- Conenello, G. M.; Zamarin, D.; Perrone, L. A.; Tumpey, T.; Palese, P. *A single mutation in the PB1-F2 of H5N1 (HK/97) and 1918 influenza A viruses contributes to increased virulence*. In: *PLoS Pathog.* 3 (2007) S. 1414–1421.
- Crawford, P. C.; Dubovi, E. J.; Castleman, W. L.; Stephenson, I.; Gibbs, E. P. J.; Chen, L.; Smith, C.; Hill, R. C.; Ferro, P.; Pompey, J.; Bright, R. A.; Medina, M.-J.; Influenza Virus Genomics Group; Johnson, C. M.; Olsen, C. W.; Cox, N. J.; Klimov, A. I.; Katz, J. M.; Donis, R. O. *Transmission of equine influenza virus to dogs*. In: *Science* 310 (2005) S. 482–485.
- Diebold, S. S.; Kaisho, T.; Hemmi, H.; Akira, S.; Reis e Sousa, C. *Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA*. In: *Science* 303 (2004) S. 1529–1531.
- Dowdle, W. R. *Influenza A virus revisited*. In: *Bull. World Health Organ.* 77 (1999) S. 820–828.

- Gabriel, G.; Herwig, A.; Klenk, H. D. *Interaction of polymerase subunit PB2 and NP with importin alpha1 is a determinant of host range of influenza A virus*. In: *PLoS Pathog.* 4 (2008) e11.
- Garcia-Robles, I.; Akarsu, H.; Müller, C. W.; Ruigrok, R. W.; Baudin, F. *Interaction of influenza virus proteins with nucleosomes*. In: *Virology* 332 (2005) S. 329–336.
- Garcia-Sastre, A. *Inhibition of interferone-mediated antiviral responses by influenza A viruses and other negative-strand RNA viruses*: In: *Virology* 279 (2001) S. 375–384.
- Fouchier, R. A. M.; Munster, V.; Wallenstein, A.; Bestebroer, T. M.; Herfst, S.; Smith, D.; Rimmelzwaan, G. F.; Olsen, B.; Osterhaus, A. D. M. E. *Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls*. In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 2814–2822.
- Haller, O.; Kochs, G. *Thogotovirus*. In: Tidona, C. A.; Darai, G. *The Springer Index of Viruses*. Berlin, Heidelberg, New York (Springer-Verlag) 2002, S. 615–619.
- Haller, O.; Frese, M.; Kochs, G. *Mx proteins: mediators of innate resistance to RNA viruses*. In: *Rev. Sci. Tech.* 17 (1998) S. 220–230.
- Hara, K.; Shiota, M.; Kido, H.; Ohtsu, Y.; Kashiwagi, T.; Iwahashi, J.; Hamada, N.; Mizoue, K.; Tsumura, N.; Kato, H.; Toyoda, T. *Influenza virus RNA polymerase PA subunit is a novel serin protease with Ser624 at the active site*. In: *Genes Cells* 6 (2001) S. 87–97.
- Hatta, M.; Kawaoka, Y. *The continued pandemic threat posed by avian influenza viruses in Hong Kong*. In: *Trends Microbiol.* 10 (2002) S. 340–344.
- Hatta, M.; Kawaoka, Y. *The NB protein of influenza B virus is not necessary for virus replication in vitro*. In: *J. Virol.* 77 (2003) S. 6050–6054.
- Herrier, G.; Klenk, H. D. *Structure and function of the HEF glycoprotein of influenza C virus*. In: *Adv. Virus Res.* 40 (1991) S. 213–234.
- Ison, M.G.; Gubareva, L.V.; Atmar, R.L.; Treanor, J.; Hayden, F.G. *Recovery of drug-resistant influenza virus from immunocompromised patients: a case series*. In: *J. Infect. Dis.* 193 (2006) S. 760–764.
- de Jong, M.D.; Tran, T. T.; Truong, H. K.; Vo, M. H.; Smith, G. J.; Nguyen, V. C.; Bach, V. C.; Phan, T. Q.; Do, Q. H.; Guan, Y.; Peiris, J. S.; Tran, T. H.; Farrar, J. *Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection*. In: *N. Engl. J. Med.* 353 (2005) S. 2667–2672.
- Klenk, H. D. *Infection of the endothelium by influenza viruses*. In: *Thromb. Haemost.* 94 (2005) S. 262–265.
- Klenk, H. D.; Garten, W. *Host cell proteases controlling virus pathogenicity*. In: *Trends Microbiol.* 2 (1994) S. 39–43.
- Krug, R. M. (Hrsg.) *The Influenza Viruses*. New York (Plenum Press) 1989.
- Krug, R. M.; Yuan, W.; Noah, D. L.; Latham, A. G. *Intracellular warfare between human influenza viruses and human cells: the roles of the viral NS1 protein*. In: *Virology* 309 (2003) S. 181–189.
- Ludwig, S.; Pleschka, S.; Planz, O.; Wolff, T. *Ringling the alarm bells: signalling and apoptosis in influenza virus infected cells*. In: *Cell Microbiol.* 8 (2006) S. 375–386.
- Mahmoudian S., Auerochs S., Gröne M., Marschall M. *Influenza A virus proteins PB1 and NS1 are subject to functionally important phosphorylation by protein kinase C*. In: *J. Gen. Virol.* 90 (2009) S. 1392–1397.
- Matrosovich M.; Stech J.; Klenk H. D. *Influenza receptors, polymerase and host range*. In: *Rev. Sci. Tech.* 28 (2009) S. 203–217.
- Mazur, I.; Anhlan, D.; Mitzner, D.; Wixler, L.; Schubert, U.; Ludwig, S. *The proapoptotic influenza A virus protein PB1-F2 regulates viral polymerase activity by interaction with the PB1 protein*. In: *Cell Microbiol.* 10 (2008) S. 1140–1152.
- Min, J. Y.; Krug, R. M. *The primary function of RNA binding by the influenza A virus NS1 protein in infected cells: Inhibiting the 2'-5' oligo (A) synthetase/RNase L pathway*. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 (2006) S. 7100–7105.
- Mitzner, D.; Dudek, S. E.; Studtrucker, N.; Anhlan, D.; Mazur, I.; Wissing, J.; Jänsch, L.; Wixler, L.; Bruns, K.; Sharma, A.; Wray, V.; Henklein, P.; Ludwig, S.; Schubert, U. *Phosphorylation of the influenza A virus protein PB1-F2 by PKC is crucial for apoptosis promoting functions in monocytes*. In: *Cell Microbiol.* 2009
- Mould, J.A.; Paterson, R.G.; Takeda, M.; Ohigashi, Y.; Venkataraman, P.; Lamb, R.A.; Pinto, L.H. *Influenza B virus BM2 protein has ion channel activity that conducts protons across membranes*. In: *Dev. Cell.* 5 (2003) S:175–184.
- Muramkami, M.; Towatari, T.; Ohuchi, M.; Shiota, M.; Akao, M.; Okumura, Y.; Parry, M. A. A.; Kido, H. *Mini-plasmin found in the epithelial cells of bronchioles triggers infection by broad spectrum influenza A viruses and Sendai virus*. In: *Eur. J. Biochem.* 268 (2001) S. 2847–2855.
- Naffakh, N.; Massin, P.; Werf, S. van der. *The transcription/replication activity of the polymerase of influenza A viruses is not correlated with the level of proteolysis induced by the PA subunit*. In: *Virology* 285 (2001) S. 244–252.
- Neumann, G.; Hughes, M. T.; Kawaoka, Y. *Influenza A virus NS2 protein mediates vRNP nuclear export through NES-independent interaction hCRM1*. In: *EMBO Journ.* 19 (2000) S. 7651–7658.
- Nicholson, K. G.; Wood, J. M.; Zambon, M. *Influenza*. In: *Lancet* 362 (2003) S. 1733–1745.
- Osterhaus, A. D.; Rimmelzwaan, G. F.; Martina, B. E.; Bestebroer, T. M.; Fouchier, R. A. *Influenza B virus in seals*. In: *Science* 288 (2000) S. 1051–1053.
- Oxford, J. S. *Influenza A pandemics of the 20th century with special reference to 1918: virology, pathology and epidemiology*. In: *Rev. Med. Virol.* 10 (2000) S. 119–133.
- Palese, P.; Talon, J.; O'Neill, R. E.; Anderson, D. K.; Garcia-Sastre, A.; Palese, P. *Influenza B and C virus NEP (NS2) proteins possess nuclear export activities*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 7375–7383.
- Perez, D. R.; Donis, R. O. *Functional analysis of PA binding by influenza A virus PB1: effects on polymerase activity and viral infectivity*. In: *J. Virol.* 75 (2001) S. 8127–8136.
- Peng, G.; Hongo, S.; Muraki, Y.; Sugawara, K.; Nishimura, H.; Kitame, F.; Nakamura, K. *Genetic reassortment of influenza C viruses in man*. In: *J. Gen. Virol.* 75 (1994) S. 3619–3622.
- Pinto, L. H.; Lamb, R. A. *The M2-proton channels of influenza A and B viruses*. In: *J. Biol. Chem.* 281 (2006) S. 8997–9000.
- Reid, A. H.; Fanning, T. G.; Hultin, J. V.; Taubenberger, J. K. *Origin and evolution of the 1918 „spanish“ influenza virus*

- hemagglutinin. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999) S. 1651–1656.
- Seo, S. H.; Hoffmann, E.; Webster, R. G. *Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses*. In: *Nat. Med.* 8 (2002) S. 950–954.
- Shinya, K.; Ebina, M.; Yamada, S.; Ono, M.; Kasai, N.; Kawaoka, Y. *Avian flu: influenza virus receptors in the human airway*. In: *Nature* 440 (2006) S. 435–436.
- Skehel, J. J.; Wiley, D. C. *Receptor binding and membrane fusion in virus entry: The influenza hemagglutinin*. In: *Annu. Rev. Biochem.* 69 (2000) S. 531–569.
- Smith G. J.; Vijaykrishna, D.; Bahl, J.; Lycett, S. J.; Worobey, M.; Pybus, O. G.; Ma, S. K.; Cheung, C. L.; Raghwani, J.; Bhatt, S.; Peiris, J. S.; Guan, Y.; Rambaut, A. *Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic*. In: *Nature* 459 (2009) S. 1122–1125.
- Subbarao, K.; Shaw, M. W. *Molecular aspects of avian influenza (H5N1) viruses isolated from humans*. In: *Rev. Med. Virol.* 10 (2000) S. 337–348.
- Suzuki, Y. *Sialobiology of influenza: molecular mechanism of host range variation of influenza viruses*. In: *Biol. Pharm. Bull.* 28 (2005) S. 399–408.
- Swayne, D. E. *Understanding the ecology and epidemiology of avian influenza viruses: Implications for zoonotic potential*. In: Brown, C.; Brolin, C. (Hrsg.) *Emerging diseases of animals*. Washington D. C. (ASM Press) 2000, S. 101–130.
- Taubenberger, J. K.; Reid, A. H.; Janczewski, T. A.; Fanning, T. G. *Integrating historical, clinical and molecular genetic data in order to explain the origin and virulence of the 1918 Spanish influenza virus*. In: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 356 (2001) S. 1829–1839.
- To, K.-F.; Chan, P. K. S.; Chan, K.-F.; Lee, W.-K.; Lam, W.-Y.; Wong, K.-F.; Tang, M. L. S.; Tsang, D. N. C.; Sung, R. Y. T.; Buckley, T. A.; Tam, J. S.; Cheng, A. F. *Pathology of fatal human infection associated with avian influenza A H5N1 virus*. In: *J. Med. Virol.* 63 (2001) S. 242–246.
- Tumpey, T. M.; Suarez, D. L.; Perkins, L. E.; Senne, D. A.; Lee, J. G.; Lee, Y. J.; Mo, I. P.; Sung, H. W.; Swayne, D. E. *Characterization of a highly pathogenic H5N1 avian influenza A virus isolated from duck meat*. In: *J. Virol.* 76 (2002) S. 6344–6355.
- Wagner, R.; Herwig, A.; Azzouz, N.; Klenk, H. D. *Acylation-mediated membrane anchoring of avian influenza virus hemagglutinin is essential for fusion pore formation and virus infectivity*. In: *J. Virol.* 79 (2005) S. 6449–6458.
- Webster, R. G.; Bean, W. J.; Gorman, O. T.; Chambers, T. M.; Kawaoka, Y. *Evolution and ecology of influenza A viruses*. In: *Microbiological Reviews* 56 (1992) S. 152–179.
- Webster, R. G.; Guan, Y.; Peiris, M.; Walker, D.; Krauss, S.; Zhou, N. N.; Govorkova, E. A.; Ellis, T. M.; Dyrting, K. C.; Sit, T.; Perez, D. R.; Shortridge, K. F. *Characterization of H5N1 influenza viruses that continue to circulate in geese in south-eastern China*. In: *J. Virol.* 76 (2002) S. 118–126.
- Wiley, D. C.; Skehel, J. J. *The structure and function of the hemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus*. In: *Annu. Rev. Biochem.* 56 (1987) S. 365–394.
- Wise, H. M.; Foeglein, A.; Sun, J.; Dalton, R. M.; Patel, S.; Howard, W.; Anderson, E. C.; Barclay, W. S.; Digard, P. *A complicated message: Identification of a novel PB1-related protein translated from influenza A virus segment 2 mRNA*. In: *J. Virol.* 83 (2009) S. 8021–8031.
- Zamarin, D.; Garcia-Sastre, A.; Xiao, X.; Wang, R.; Palese, P. *Influenza virus PB1-F2 protein induces cell death through mitochondrial ANT3 and VDAC1*. In: *PLoS Pathog.* 1 (2005) e4.