



Serum- und Nervenwasserproben von Patienten mit Verdacht auf eine Prionerkrankung, darunter die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK).
Foto:
Marc-Oliver Schulz

Bei Prionerkrankungen handelt es sich um schnell verlaufende neurodegenerative Erkrankungen mit einer langen Inkubationszeit. Zu ihnen zählt die sporadische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit des Menschen, die weltweit mit gleicher Häufigkeit auftritt. Obwohl familiäre und übertragene Formen inzwischen bekannt sind, ist die Ursache bisher nicht geklärt. Eine neue Variante der CJK, die sich im klinischen und neuropathologischen Bild von den bisher bekannten Formen unterscheidet, trat Mitte der 1990er Jahre in Großbritannien auf und wird mit Boviner Spongiformer Enzephalopathie der Rinder in Zusammenhang gebracht. Ein besseres Verständnis der pathogenetischen Mechanismen und insbesondere der Funktion des Prionproteins ist für die Entwicklung einer Diagnose vor Ausbruch der Krankheit und für Therapieoptionen beim Menschen unerlässlich. Die Abteilung Neurologie der Universität Göttingen erhält als bundesweites CJK-Überwachungszentrum (CJK-Surveillance) dazu Daten und Proben von Verdachtsfällen aus der ganzen Bundesrepublik für ihre Forschungen über diese Erkrankung.

Was macht die Prionforschung so interessant?

Seit ihrer Erstbeschreibung in den 20er Jahren des letzten Jahrhunderts durch Hans Gerhard Creutzfeldt und Alfons Jakob geben die spongiformen Enzephalopathien (schwammartige Hirnerkrankungen) des Menschen, modern auch Prionkrankheiten genannt, immer wieder neue Rätsel auf. Im Laufe der Jahre veränderten sich die Erklärungskonzepte zur Krankheitsentstehung: Zunächst galt die Erkrankung als ein rein neurodegeneratives Leiden mit einer genetischen Komponente. Einem Zufall ist es zu verdanken, dass diese Sichtweise sich änderte. Die Beobachtung der Ähnlichkeit neuropathologischer Veränderungen bei Scrapie, einer übertragbaren spongiformen Enzephalopathie der Schafe, und Kuru, einer durch rituellen Kannibalismus in der Fore-Sprachregion auf Papua-Neuguinea vorkommenden Erkrankung, gab Anlass zu einer Reihe von Übertragungsexperimenten. Nachdem Kuru experimentell auf Primaten übertragen worden war, gelang es zu zeigen, dass auch die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) ihrerseits übertragen werden kann. Es ist bekannt, dass die Erkrankung jedoch auch vererbt wird (in circa zehn Prozent der Fälle). Neben familiären Fällen einer CJK werden auch das Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) und die letale familiäre Insomnie

Ein Protein gibt Rätsel auf

Neue Wege in der Prionforschung
Inga Zerr, Walter Schulz-Schaeffer

(fatal familial insomnia, FFI) den familiären Formen der Prionkrankheiten zugeordnet. Bisher sind acht verschiedene Formen humaner Prionkrankheiten bekannt (Abb. 1).

Ein gemeinsamer Nenner der Entstehung dieser Prionerkrankungen ist jedoch noch nicht identifiziert. In einigen wenigen Fällen ist eine exogene Infektion sicher (Kuru, iatrogene CJD, durch BSE ausgelöste Variante der CJK). Einige Formen werden vererbt. In der Mehrzahl der Fälle konnte jedoch bisher kein gemeinsamer umweltbezogener Faktor beziehungsweise keine genetische Grundlage identifiziert werden (daher: sporadische CJK).

Prionkrankheiten bilden somit eine Schnittstelle, an der unterschiedliche pathogenetische Prinzipien zusammentreffen: Infektion/Übertragbarkeit, Neurodegeneration und genetische Veranlagung. Sie weisen jedoch noch eine weitere Einzigartigkeit auf und nehmen damit eine Sonderstellung ein: Sowohl sporadische als auch genetische und übertragene Formen der Erkrankung sind ihrerseits im Tierexperiment übertragbar.

Ursache (Ätiologie)

Die Natur des Erregers (infektiöses Agens) der spongiformen Enzephalopathien ist auch nach vielen Jahren der Erforschung nicht

Kuru Iatrogene CJK Variante der CJK		<i>Infektion</i>
Sporadische CJK Sporadische letale Insomnie (SFI)		<i>unbekannt</i>
Familiäre CJK Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) Letale familiäre Insomnie (FFI)		<i>PrP-Mutation</i>

Abb. 1
 Prionkrankheiten und ihre Entstehungsursache



Abb. 2
Methode der
Kapillarelektrophorese
zum Nachweis des
krankhaft veränderten
Prion-Proteins.
Foto:
Marc-Oliver Schulz

befriedigend geklärt. So gelang es bisher nicht, eine virale Nukleinsäure zu identifizieren. 1982 wurde von Stanley Prusiner die Bezeichnung *Prion* (*proteinaceous infectious particle*) zur Charakterisierung des teilweise aufgereinigten Erregers als proteinartiges infektiöses Partikel eingeführt. Mit diesem Begriff sollte das infektiöse Agens von Viren oder Viroiden abgegrenzt und hervorgehoben werden, dass ein Eiweiß der wesentliche Bestandteil des Erregers ist. Dieses Protein wird als PrP^c (Prionprotein, c=cellular) bezeichnet und stellt die normale zelluläre Isoform des pathologischen Proteins (PrP^{Sc}, Sc=Scrapie) dar, das sich als Ablagerungen im neuronalen Gewebe bei Erkrankten findet. Im Laufe der nächsten Jahre wurde evident, dass beide Formen sich in ihrer räumlichen Struktur – man spricht von Tertiärstruktur – unterscheiden, ohne dass die Prozesse vollständig geklärt sind, die an der Umwandlung der charakteristischen alpha-helikalen Struktur des PrP^c in die dann entstehende Faltblattstruktur des PrP^{Sc} beteiligt sind. Mitte der 1980er Jahre konnte das Gen für das Protein charakterisiert werden, das sich beim Menschen auf dem Chromosom 20 befindet. Bei bereits bekannten familiären Prionkrankheiten wurden Mutationen nachgewiesen, somit war die Schlüsselrolle des Prionproteins in der

Pathogenese übertragbarer spongiformer Enzephalopathien weiter erhärtet.

Neben den Mutationen des Prionprotein-Gens kennen wir beim Menschen den so genannten Methionin/Valin-Polymorphismus an der Aminosäureposition 129. Bei einem Teil der Bevölkerung wird an dieser Aminosäureposition jeweils nur für Methionin oder Valin kodiert (so genannte Homozygote), bei anderen wird sowohl für Methionin als auch für Valin kodiert (Heterozygote). Aufregend ist der Zusammenhang mit der Empfänglichkeit und der Inkubationszeit bei Prionkrankheiten: 42 Prozent sind homozygot für Methionin und 13 Prozent sind homozygot für Valin, circa die Hälfte (45 Prozent der Normalbevölkerung) ist heterozygot (Methionin/Valin). Bei allen bisher bekannten Formen ist diese Verteilung zugunsten von Homozygoten verändert. Darüber hinaus wird die Inkubationszeit (Zeit zwischen Infektion und Ausbruch der Erkrankung) bei übertragenen Formen (Kuru, iatrogene CJK, Variante der CJK) durch den Kodon 129-Genotyp kontrolliert. Homozygote erkranken tendenziell früher als Heterozygote. Ein weiterer, bisher noch nicht gänzlich geklärt Zusammenhang besteht für das klinische Bild: Valin-homozygote Patienten sind in der Regel bei Ausbruch der Krankheit jünger

als Methionin-homozygote oder heterozygote und haben eine längere Krankheitsdauer.

Epidemiologie

1993 wurde unter der Leitung von Prof. Dr. Sigrid Poser an der Neurologischen Universitätsklinik Göttingen ein CJK-Register aufgebaut. Ziel dieses bundesweiten Überwachungs-Registers unter dem Namen »CJK-Surveillance« war, alle in Deutschland auftretenden CJK-Fälle und eventuelle Änderungen der Zahlen, die im Zuge der BSE-Epidemie vermutet wurden, zu erfassen. So gelang es, eine umfassende Epidemiologie für Deutschland aufzustellen.

Die sporadische CJK ist eine Erkrankung des mittleren bis höheren Lebensalters (im Durchschnitt 67 Jahre). Interessant ist die Beobachtung, dass die altersspezifische Häufigkeit pro Einwohnerzahl nach Altersgruppe eine stetige Zunahme etwa bis zum siebten Jahrzehnt erreicht, jedoch bei älteren Patienten, ganz im Gegensatz zu anderen neurodegenerativen Erkrankungen, wieder abnimmt. Dieser epidemiologische Befund wirft eine Reihe von Fragen auf, die sich unter anderem mit der Diagnostik der Prionkrankheiten und der physiologischen Funktion des Prionproteins beschäftigen. Zum einen gilt es zu klären, ob die Erkrankung bei älteren Patienten atypisch verläuft, mit jetzigen Methoden nicht diagnostiziert und deshalb nicht erkannt wird. Der Nachweis des abnormen PrP^{Sc} in nicht-neuronalem Gewebe könnte zur Diagnose beitragen, die Häufigkeit der Fehldiagnosen reduzieren und – noch Zukunftsmusik – ermöglichen, die Erkrankung möglichst vor ihrem Ausbruch zu diagnostizieren, was für eine Therapieoption unerlässlich ist. Zum anderen könnte die Klärung der physiologischen Funktion des Prionproteins helfen, altersabhängige Prozesse

und Mechanismen, die zur Erkrankung führen, zu verstehen.

Diagnostik

Die klinische Diagnose basiert auf der Anamnese, einem typischen Verlauf und Kombination verschiedener neurologischer Ausfälle. Unterstützt wird sie durch Zusatzuntersuchungen wie das Elektroenzephalogramm (EEG), die Kernspintomografie (MRT) und Untersuchungen des Nervenwassers (Liquor). Das EEG, die älteste unter den genannten Methoden, zeigt Veränderungen mit so genannten periodischen scharfen Wellen. Diese wurden bereits in den 1950er Jahren beobachtet. Das MRT ist hilfreich in der differenzialdiagnostischen Abgrenzung sporadischer CJK und der mit BSE assoziierten Variante der CJK (vCJK): Bei letzterer finden sich hyperintense Signalanhebungen im posterioren Thalamus, während bei sporadischer CJK überwiegend die Basalganglien (Nucleus caudatus und Putamen) betroffen sind (Abb. 3). Die wichtigste Untersuchung stellt jedoch die Untersuchung des Liquor zerebrospinalis dar. In der Regel findet man in den Standarduntersuchungen keine Auffälligkeiten. Bedingt durch den raschen neuronalen Zerfall bei diesem akut fortschreitenden Prozess steigen die Liquorkonzentrationen neuronaler Proteine um das Vielfache an. Dies kann diagnostisch verwertet werden, da der Anstieg bei anderen Demenzen nicht so dramatisch ausfällt. Der Nachweis der Proteine 14-3-3 ist inzwischen in die diagnostischen Kriterien eingegangen.

Neue Ansätze

Per definitionem erfordert die Diagnose einer Prionkrankheit des Menschen den Nachweis typischer pathologischer Veränderungen des Hirngewebes (spongiforme Degeneration, Neuronenverlust, Gliose und immunhistochemischer Nachweis der

pathologischen Form des Prionproteins) (Abb. 4). Diese Untersuchung kann in der Regel in vollem Umfang nur nach der Autopsie durchgeführt werden. Die zunehmende Erforschung dieser Erkrankungen erlaubt inzwischen bereits früher eine zuverlässige klinische Diagnose. Eine frühe Diagnosestellung, möglichst in der Phase vor dem Ausbruch der Symptome und unter Zuhilfenahme von nicht-neuronalem Gewebe, ist ein wichtiges Ziel der Prionforschung. Auch im Hinblick auf das Vorkommen der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie (BSE) und der noch fehlenden Möglichkeiten eines Screenings von noch nicht auffällig gewordenen Tieren gewinnt der Nachweis der pathologischen Form des Prionproteins in leicht zugänglichem Gewebe, zum Beispiel Liquor oder Blut, eine zunehmende Bedeutung. In einem durch die Europäische Kommission geförderten und in Göttingen koordinierten Projekt arbeitet die Gruppe an biochemischen Parametern im Liquor und Serum, die zur verbesserten Diagnose der Prionkrankheiten beitragen sollen. Dabei werden neben neuronalen Proteinen, die die intrazerebral ablaufenden Prozesse widerspiegeln, auch mögliche Begleitreaktionen und die Mitbeteiligung des Immunsystems untersucht. Ein Schwerpunkt ei-

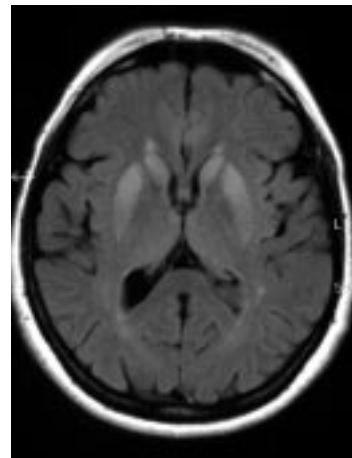


Abb. 3
Kernspintomografie:
Zeichen erhöhter
Signalintensität in den
Basalganglien bei sporadischer Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK)
Abbildungen:
CJK-Surveillance

nes durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Projekts ist der Nachweis des pathologischen Prionproteins im Liquor oder Blut. Dabei wurde eine in Zusammenarbeit mit Dr. Mary Jo Schmeerr an der Iowa State University (USA) entwickelte Methode der *Kapillarelektrophorese* zum Nachweis des PrP^{Sc} an Liquorbedingungen angepasst. Kernstück dieser Methode ist die Bindung eines Antikörpers gegen ein Fluoreszenz-markiertes Peptid und die Verdrängung dieser Bindung durch das pathogene Prionprotein (PrP^{Sc}). Nach elektrophoretischer Auftrennung der Probe wird eine Laser-induzierte Fluoreszenz gemessen, die sich im Elektropherogramm als ein hoher Ausschlag der Kurve (Gipfel/Peak) darstellt. Enthält die Pro-

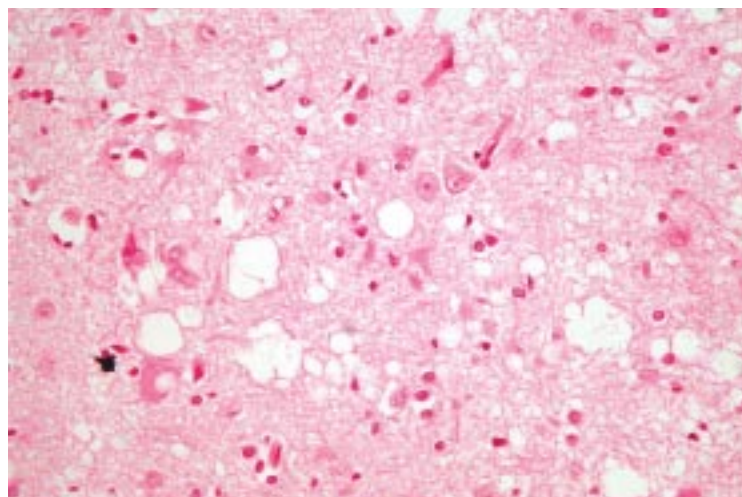


Abb. 4
Spongiforme Veränderungen im menschlichen Hirngewebe bei der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK)



Abb. 5a
Repräsentative Darstellung einer normalen Probe des Hirnwassers (Liquorprobe)

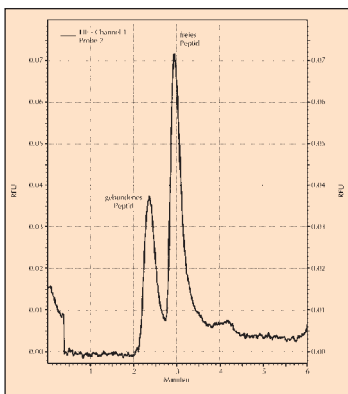


Abb. 5b
Repräsentative Darstellung einer Liquorprobe eines an Creutzfeldt-Jakob-Erkrankten: deutliche Veränderung des charakteristischen Analysebildes in den »Peaks« (Gipfeln)

be sowohl Antikörper-Peptidkomplex als auch Antikörper-Prionproteinkomplex, so werden zwei Peaks (Gipfel) beobachtet, die in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen (Abb. 5a). Zum Nachweis des PrP^{Sc} wird eine weitere Eigenschaft dieses Proteins genutzt: Das normale Prionprotein lässt sich durch die Hinzugabe der Substanz Proteinase K vollständig abbauen, während das PrP^{Sc} resistent ist. Wird nun die zu untersuchende Probe zunächst mit Proteinase K behandelt, so führt das zum vollständigen Abbau des PrP^C. Das verbleibende PrP^{Sc} kann in der anschließenden Messung durch eine Veränderung des Verhältnisses beider Kurven zueinander indirekt nachgewiesen werden (Abb. 5b).

Physiologische Funktion des Prionproteins

Das Prionprotein nimmt eine zentrale Rolle in der Pathogenese der menschlichen Prionerkrankungen ein, die bisherige Forschung konzentrierte sich insbe-

sondere auf die Untersuchung der pathologischen Form. Obwohl einige Besonderheiten inzwischen bekannt sind, ist die physiologische Rolle des normalen Prionproteins vollkommen ungeklärt. Entgegen bisherigen Vermutungen, dass das normale Prionprotein keine physiologische Funktion besitzt, weisen neuere Untersuchungen darauf hin, dass PrP^C für die Funktion sogenannter Purkinjezellen (Zellen im Kleinhirn) und zur Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus erforderlich ist. Des Weiteren hat es Kupfer bindende Eigenschaften. Jüngste Arbeiten schreiben dem an der Zellmembran verankerten PrP^C eine protektive Funktion gegen oxidativen Stress zu. Über Wechselwirkungen mit einem weiteren Protein (Stress inducible Protein 1) hat es offensichtlich neuroprotektive Eigenschaften.

Ein Projekt, das im Rahmen des DFG Forschungszentrums Molekularphysiologie des Gehirns (CMPB) in Göttingen bearbeitet wird, beschäftigt sich mit den Funktionen des zellulären Prionproteins. Hierzu dient eine Zelllinie, bei der das endogene PrP-Gen entfernt wurde. Anschließend wird es unter kontrollierten Bedingungen wieder in die Zelle eingebracht. So können jene Prozesse untersucht werden, die nur vom Prionprotein-Gen beziehungsweise vom Prionprotein ausgehen. Insbesondere ist dabei die Rolle des Prionproteins in der Apoptose (programmierter Zelltod) von besonderem Interesse. An einem Tiermodell einer permanenten Ischämie (Schlaganfall) können die neuroprotektiven Funktionen des gesunden Prionproteins gezeigt werden. Vergleichende Studien an genetisch manipulierten Mäusen sollen zum besseren Verständnis der regulatorischen Mechanismen führen. Sowohl die Stimulation als auch die Hemmung der endogenen Prionproteinsynthese und der Einfluss auf das Ausmaß der Ge-

webeschädigung werden in diesem Modell bearbeitet.

Ausbreitung des Erregers im Organismus

Es wird angenommen, dass bei idiopathischen (sporadischen) Erkrankungen die krankhafte Veränderung des Prionproteins vom PrP^C zum PrP^{Sc} primär spontan erfolgt. Welche Faktoren an der Umfaltung beteiligt sind, ist unbekannt. Nach der heutigen Vorstellung wird bei einer Übertragung einer Prionkrankheit von einer Spezies auf eine andere eine Konformationsänderung des Wirt-Prionproteins durch das pathologische Prionprotein induziert. Die Latenzzeit bis zum Ausbruch der Erkrankung ist dabei deutlich länger als bei einer Übertragung innerhalb der gleichen Spezies (Speziesbarriere). Speziesbarrieren können unterschiedlich stark ausgeprägt sein. So ist zum Beispiel eine Übertragung von Scrapie auf Schimpansen nicht möglich. Die Speziesbarriere Rind – Mensch ist zurzeit noch nicht abschätzbar.

Ob eine Übertragung einer Prionkrankheit stattfindet, hängt von der Menge des in den Körper aufgenommenen infektiösen Agens und dem Übertragungsweg ab. Der orale Übertragungsweg ist mindestens um den Faktor 100 weniger effizient als das Einbringen infektiösen Gewebes ins Gehirn. Durch logarithmische Verdünnungsreihen bei tierexperimentellen Übertragungsversuchen konnte eine Dosis-Wirkungs-Beziehung ermittelt werden, die eine Erregermengenabschätzung erlaubt. Wie bei den beobachteten BSE-Fällen kommt es auch bei experimentellen Übertragungsversuchen bei geringer Erregermenge dazu, dass nur vereinzelt Tiere erkranken.

Im Gegensatz zu sporadischen und genetischen Prionkrankheiten wurde bei Patienten der neu aufgetretenen Variante der CJK, die offensichtlich durch Übertra-

gung des BSE-Erregers auf Menschen ausgelöst wird, ein anderes Verteilungsmuster des pathologischen Prionproteins im Körper gefunden. Während bei der sporadischen CJK PrP^{Sc} mit den klassischen Methoden nur im zentralen Nervensystem nachzuweisen ist, findet sich bei der Variante der CJK pathologisches Prionprotein auch in lymphatischen Organen.

Am Göttinger Institut für Neuropathologie wurde ein Hamster-Infektionsmodell etabliert, anhand dessen die zeitabhängige Ausbreitung pathologischen Prionproteins im Körper nach oraler

Applikation während der Inkubationszeit untersucht wird. In diesem Modell ist pathologisches Prionprotein zuerst im gastrointestinalen lymphatischen System und im gastrointestinalen Nervensystem nachweisbar. Es erfolgt eine Ausbreitung entlang des Nervus vagus, und demzufolge ist im Gehirn zuerst im dorsalen motorischen Vagus kern des Hirnstamms pathologisches Prionprotein detektierbar. Dieses Ausbreitungsmuster unterscheidet sich deutlich von dem Muster, das bei primärer Ausbreitung des Erregers im Gehirn gefunden wird. Es ist vergleichbar mit dem Ausbrei-

tungsmuster, wie es bei Scrapie des Schafes in Herden mit jahrelanger hoher Inzidenz gesehen wird. Bei noch nicht klinisch erkrankten Rindern, die im Rahmen von BSE-Kohortentötungen untersucht worden sind, konnte das gleiche Ausbreitungsmuster des PrP^{Sc} im Gehirn gefunden werden wie in frühen Stadien experimentell oral infizierter Versuchstiere. Im Rahmen eines von der Europäischen Union (EU) geförderten Forschungsprojektes wird derzeit untersucht, ob Ausbreitungsmuster des pathologischen Prionproteins spezifischen Infektionswegen zugeordnet werden können. Dieses würde die Möglichkeit eröffnen, Erregerquellen für Prionkrankheiten zu identifizieren und damit gezielt die Krankheitsverbreitung zu unterbinden.

Schlussfolgerung

Die Prionerkrankungen des Menschen bilden eine Schnittstelle, an der verschiedene pathogenetische Mechanismen wie Infektion, spontanes Entstehen und genetische Veranlagung zusammenkommen. Sie kommen sowohl bei Menschen als auch bei Tieren vor.

Gemeinsam ist allen eine lange Inkubationszeit mit einem kurzen klinischen Verlauf. Eine weitere Besonderheit stellt die Übertragbarkeit aller bekannten Formen dar, sowohl innerhalb einer Spezies als auch von einer Spezies auf eine andere. Erreger wie Viren oder Bakterien ließen sich bisher nicht identifizieren; nach heute gängigen Vorstellungen hat ein in seiner Konformation verändertes endogenes Protein eine Schlüsselrolle bei der Krankheitsentstehung. Durch die intensive Zusammenarbeit klinischer, molekularbiologischer, epidemiologischer und neuropathologischer Forschungsgruppen erfährt die Prionforschung in den letzten Jahren einen zunehmenden Wandel, der zum besseren Verständnis der Pathogenese der Erkrankung führt. ◀



Privatdozentin Dr. Inga Zerr studierte Medizin an der Georg-August-Universität und promovierte 1995. Schwerpunkt ihrer Forschung sind die Diagnostik menschlicher Prionerkrankungen, deren Epidemiologie, die Differenzialdiagnose der präsenilen Demenzen sowie die physiologische Rolle des Prionproteins. Sie habilitierte im November 2001 mit dem Thema »Der Beitrag von Liquoruntersuchungen zur Frühdiagnose der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung«. Einen weiteren Forschungsschwerpunkt ihrer Arbeit bilden die mit Schilddrüsenerkrankungen assoziierten Prozesse im zentralen Nervensystem.



Dr. Walter Schulz-Schaeffer studierte Medizin an der Universität Hamburg und wurde 1994 über die sonographische Darstellbarkeit von Hirnstrukturen promoviert. Nach Mitarbeit an einer rechtsmedizinischen Studie zur Drogenproblematik erfolgte die Facharzt Ausbildung für Neuropathologie an der Universität Göttingen. Dr. Schulz-Schaeffer leitet am Universitätsklinikum die neuropathologische Forschungsgruppe Prion- und Demenzforschung und ist Koordinator für die Erforschung der Transmissiblen Spongiformen Enzephalopathie (TSE) in Niedersachsen.

Prion diseases in humans and in animals are fatal neurodegenerative diseases with long incubation times. In humans, Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) occurs throughout the world and although there are recognized familial and acquired forms, the cause of sporadic disease is unknown. A new form, variant CJD, which is peculiar in clinical and neuropathological

features, occurred in the mid-1990s, mainly in the United Kingdom, and is thought to be linked to the bovine spongiform encephalopathy of cattle. Better insight in the pathogenetic process and into the functional role of the prion protein is required for development of premortem diagnostic techniques and potential treatment in humans.