Untersuchungen zur Beeinflussung der Organlokalisierung von Influenza-Virus*

Von

H. FAILLARD und H. STICKL

Physiologisch-Chemisches Institut (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. KLENK)
und Kinderklinik (Direktor: Prof. Dr. C. BENNHOLDT-THOMSEN)
der Universität Köln

(Eingegangen am 20. Dezember 1961)

Ein großer Teil der Mikroorganismen besitzt die Fähigkeit, sich im Wirtsorganismus in bestimmten Organen und Geweben zu lokalisieren. Experimentelle Untersuchungen über die Verteilung des Influenza-Virus und seine mögliche Affinität zu verschiedenen Organen sind in vivo bisher kaum durchgeführt worden. Durch radioaktive Markierung des Virus mit ^{32}P versuchten erstmals ISHIDA, KOSAKA und SASAKI¹ an Mäusen die Verteilung des Virus in verschiedenen Organen aufzuzeigen. Eine Anreicherung von Viren in Lungengewebe konnte

bei einem Virus-Hämagglutinationstiter von 1024 bzw. 5120 Hämagglutinations-Dosen/ml erhalten werden (Messung der Radioaktivität im Liquid-Scintillation-Counter mit jeweils 0,1 ml Virussuspension + 1 ml Hyamine-10 X Hydroxyd + 2 ml Dioxan (mit 3,5 g PPO/l (2,5-Diphenyloxazol) und 10 mg POPOP/l (1,4-bis-2-(5-Phenylloxazolyl)-benzol)) + 3 ml Toluol (mit 4 g PPO und 100 mg POPOP/l).

Applikation des Virus in zwei Versuchsreihen an je zwei mit Lungenmitochondrien sensibilisierte und je zwei normale Kaninchen durch intravenöse Injektion von jeweils 1 ml radioaktiver Virussuspension entsprechend 1024 bzw. 5120 HD mit 161 000 bzw. 3 900 000 Imp/min. Tötung der Tiere nach 4 Std (die sensibilisierten Tiere zeigten starken Anstieg der Körpertemperatur und Dyspnoe). Auszählen von je 10 mg an verschiedenen Organbereichen entnommenem Organ-gewebe, nach vorangegangener 8–10stündiger Hydrolyse des Gewebes in jeweils 1 ml Hyamine-10 X Hydroxyd bei 40°C, im Liquid-Scintillation-Counter nach Zusatz obengenannter Fluore in Dioxan-Toluol (Ergebnisse s. Tabelle).

Mit Lungenmitochondrien immunisierte Tiere (1a–4a) weisen eine eindeutig höhere Anreicherung von radioaktiv markiertem Virus im Lungengewebe auf gegenüber allen übrigen parenchymatösen Organen und gegenüber den Lungen nicht organsensibilisierter Tiere (1b–4b).

Verglichen mit den niedrigeren Serumwerten läßt der sehr hohe Anteil von Virus auf den Erythrocyten unter den hier angewandten Versuchsbedingungen auf deren bekannte Transportfunktion für das Virus schließen, was auch in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von HAMRE u. Mitarb.⁷ über die experi-

mentelle Virämie der Maus steht. Die relativ hohe Virusanreicherung in der Milz mag teilweise auf den Blutreichtum dieses Organs zurückzuführen sein und zusätzlich bei den organsensibilisierten Tieren noch auf einem unspezifisch bedingten, erhöhten Funktionszustand aktiver reticulärer Zellen beruhen.

Aus ähnlichen Gründen mag bei dem Versuchstier 4a, das ohnehin auffallend dystroph erschien, der hohe Impulswert im Lebergewebe mit nachträglich festgestellten, histologisch nachweisbaren, entzündlich degenerativen Veränderungen des Parenchyms zusammenhängen.

Die großen Unterschiede der Virusanreicherung im Lungengewebe organsensibilisierter Kaninchen zu den Kontrolltieren, verglichen mit den relativ kleinen Differenzen beider Gruppen im Milzgewebe, lassen schließen, daß in diesem Falle die besondere Affinität des Lungenparenchyms zum Virus auf eine durch Lungenmitochondrien erzielte Organsensibilisierung zurückzuführen ist. Bei primär für Influenza-Virus empfänglichen Mäusen hingegen werden die Unterschiede nicht in gleicher Art deutlich, worüber später ausführlicher berichtet werden soll.

Literatur. ¹ ISHIDA, N., Y. KOSAKA und H. SASAKI: Tōhoku J. exp. Med. **71**, 163 (1959). — ² FURTH, J., and M. A. KABAT: J. exp. Med. **74**, 247 (1941). — ³ HENLE, W., J. A. CHAMBERS and V. GROUPÉ: J. infect. Dis. **74**, 425 (1941). — ⁴ SCHNEIDER, W. C., and G. H. HOGEBOOM: Cancer Res. **11**, 1 (1951). — ⁵ LIU, O. C., H. BLANK, J. SPIZIZEN und W. HENLE: J. Immunol. **73**, 415 (1954). — ⁶ WECKER, E., u. W. SCHÄFER: Z. Naturforsch. **11b**, 181 (1956). — ⁷ HAMRE, D., J. APPEL and G. LOOSLI: J. Lab. clin. Med. **47**, 182 (1956).

Über die submikroskopischen Einschlusskörper bei Hepatitis

Von

H. BRAUNSTEINER, K. FELLINGER und F. PAKESCH

Aus der

Medizinischen Univ.-Klinik in Wien (Vorstand: Prof. Dr. K. FELLINGER)

(Eingegangen am 27. Dezember 1961)

Der von uns erstmalig 1957 erhobene Befund, daß es bei Serumhepatitis und Hepatitis epidemica zum Auftreten von

Tabelle

Organ	Versuchstiere				Kontrolltiere			
	Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2		Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2	
	1a Imp/min	2a Imp/min	3a Imp/min	4a Imp/min	1b Imp/min	2b Imp/min	3b Imp/min	4b Imp/min
Lungen-Parenchym .	294	507	1226	1030	68	52	99	109
Lungen-Hilus . . .	42	67	39	90	54	39	38	40
Leber	49	45	40	265	47	42	51	55
Milz	173	158	172	220	72	82	102	105
Herz	45	52	50	49	43	35	42	53
Niere	41	39	57	58	56	35	55	57
Gehirn	39	41	48		39	32	42	
Erythrocyten . . .	983	853	1492	3845	1396	1262	2992	2337
Serum	33	36	157	195	45	33	152	131

Leerwert unter den Versuchsbedingungen: 33 Imp/min.

Versuchsreihe 1 ausgeführt mit Virus vom Titer 1024 HD/ml und 154 Imp/HD.

Versuchsreihe 2 ausgeführt mit Virus vom Titer 5120 HD/ml und 761 Imp/HD.

innerhalb der ersten 3 Std nur nach intranasaler Installation und entsprechend im Gehirn nach intracerebraler und in der Leber intraperitonealer Applikation beobachtet werden. Eine spezifische Anreicherung von Influenza-Viren in bestimmten Organen, besonders in der Lunge, scheint demnach unter normalen Bedingungen nicht stattzufinden.

Da alle bisherigen Versuche keine gezielte Affinität der Viruspartikel zu den Zellen des Lungengewebes aufzeigen konnten, andererseits aber ein bevorzugter Befall der Respirationsorgane bei Influenzavirus-Erkrankungen bekannt ist, sollte hier untersucht werden, wie durch experimentelle Veränderungen an der Wirtszelle ein Organotropismus zustande kommen kann. Eine Möglichkeit hierzu bietet die Organsensibilisierung, die mit Mitochondrien als weitgehend organspezifischem Antigen in Anlehnung an KABAT u. Mitarb.² und HENLE u. Mitarb.³ durchgeführt wurde.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen, da diese durch Influenzavirus nicht akut infiziert werden und somit die Ausbildung einer verstärkten Zellaffinität zum Virus besser in Erscheinung tritt.

Sensibilisiert wurden die Kaninchen durch intramuskuläre und subcutane Injektion von Kaninchen-Lungen-Mitochondrien, welche nach der Methode von SCHNEIDER u. HOGEBOOM⁴ isoliert wurden. Die Tiere erhielten im Abstand von jeweils 3–4 Wochen noch 4–6 Booster-Injektionen mit Mitochondrien- $\text{Al}(\text{OH})_3$ -Suspensionen.

^{32}P -radioaktiv markiertes Influenza-Virus wurde zur Vermeidung einer Verdünnung durch nicht-radioaktives Phosphat auf desembryonierten Hühnereiern in Anlehnung an die Vorschriften von LIU u. Mitarb.⁵ und WECKER u. SCHÄFER⁶ gezüchtet. Das Virus wurde durch mehrfache Ultrazentrifugation und gleichzeitiges Auswaschen mit der jeweils 10^3 -fachen Menge physiologischem NaCl gereinigt und angereichert. Nicht in die Viruspartikel eingebautes radioaktives Phosphat wurde hierdurch auf mindestens das 10^6 -fache verdünnt. Bei Einsatz von 200 μC trägerfreiem Orthophosphat je Ei konnten Viruspräparate von 154 bzw. 761 Imp/min/Hämagglutinationsdosis

* Die Untersuchungen wurden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.