

**Spontane Leukämie der AKR-Mäuse.
Erfolgreiche passive Immunisierung mit Ziegen-Antikörper gegen isoliertes Glykoprotein gp71 des Friend-Leukämie-Virus**

Spontaneous Leukemia of AKR Mice.
Successful Passive Immunization with Goat Antibodies against Isolated Glycoprotein gp71 of Friend Leukemia Virus

H. Schwarz *, H.-J. Thiel und W. Schäfer

Max-Planck-Institut für Virusforschung, Tübingen

(Z. Naturforsch. 32 c, 459–461 [1977]; eingegangen am 27. April 1977)

Spontaneous Leukemia, AKR Mice, Passive Immunization, Glycoprotein, Group Specific Antibody

The occurrence of fatal spontaneous leukemia in AKR mice could be drastically reduced by passive immunization with goat antibody against isolated murine Friend virus glycoprotein gp71, possessing high group specific reactivity. The success depended on the time of antibody application. The best results were achieved when mothers and babies were inoculated.

Antikörper gegen das an der Oberfläche der C-Typ-Onkorna-Viren der Säuger gelegene Hauptglykoprotein neutralisieren diese Viren und wirken zytotoxisch auf ihre Wirtszellen. In antigener Beziehung ist diese Komponente relativ komplex beschaffen; neben typspezifischen (charakteristisch für den einzelnen Virusserotyp) sind gruppenspezifische (charakteristisch für alle C-Viren der gleichen Spezies) und sogar interspecies Determinanten vorhanden, die auch in C-Viren anderer Säuger nachzuweisen sind. Gegen das entsprechende, in weitgehend reiner Form isolierte Glykoprotein (gp71) des Friend-Leukämie-Virus (FLV) der Maus wurden potente Antiseren hergestellt, die mit allen drei Determinanten reagieren. Sie sind in der Lage, nicht nur Mäuse-C-Viren des gleichen Serotyps (FMR), sondern auch solche eines anderen Typs (G) und sogar Katzen-Leukämie-Viren, die eine kreuzreagierende interspecies-Determinante besitzen, zu neutralisieren bzw. deren Wirtszellen auszuschalten¹.

Basierend auf diesen, bei *in vitro*-Studien gewonnenen Erkenntnissen wurde anschließend im Tierversuch geprüft, inwieweit solche Antiseren bzw. Antikörper immunotherapeutisch wirksam sind. Die bisher in dieser Richtung durchgeführten Experimente ergaben, daß damit nicht nur künstliche In-

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. Schäfer, Max-Planck-Institut für Virusforschung, Spemannstr. 35/III, D-7400 Tübingen 1.

* Gegenwärtige Adresse: Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 38, D-7400 Tübingen.

fektionen der Maus mit serologisch homologem Virus (Friend- und Rauscher-Virus), sondern auch solche der Katze mit kreuzreagierenden Katzenviren geheilt werden können^{2–4}. Eindrucksvolle Erfolge wurden u. a. bei Katzen-Sarkom-Virus-induzierten, soliden Tumoren erzielt⁵.

Im folgenden wird ein Zwischenbericht über umfangreiche weitere Versuche gegeben, die klären sollen, ob Antikörper, die gegen das isolierte gp71 des FLV hergestellt wurden, auch bei der spontanen Leukämie der AKR-Mäuse wirksam sind, die durch ein vertikal übertragenes, endogenes C-Virus verursacht wird, welches einem anderen Serotyp (G) angehört. Die spontane Leukämierate liegt bei diesen Tieren bei ~90%, etwa vom 5.–6. Lebensmonat ab führt die Erkrankung zum Tode.

Das für unsere Experimente benutzte Antiserum wurde von einer Ziege gewonnen, die wir mit insgesamt 5 mg hochgradig reinem gp71 des FLV der Maus immunisierten^{5–7}. Es neutralisiert homologes (FLV) und heterologes Mäuse-C-Virus (Gross bzw. AKR) bis zu einer Verdünnung von ~1 : 3000. Sein Zytotoxizitäts-Titer (C'-abhängige Reaktion) liegt für FVL-produzierende Mäusezellen bei 1 : 3000, für entsprechende AKR-Zellen bei 1 : 1000.

Verwendet wurde ausschließlich weitgehend reines IgG des Serums (gp71-IgG), das wir gegenüber dem Serum-ausgangsvolumen etwa zweifach konzentrierten. Es wurde durch Ammonsulfatfällung und anschließende Chromatographie über DE52 gewonnen. Die Versuchstiere wurden uns z. T. vom Frederick Cancer Research Center, Frederick, Maryland 21701, U.S.A., überlassen, die Hauptmenge bezogen wir von Gl. Bomholtgard Ltd., Ry, Dänemark. Als Kontrollen dienten jeweils Tiere der gleichen Herkunft. Im allgemeinen wurden weibliche Mäuse verwendet, in Versuch 3 und 4 (Tab. I) aber auch männliche. Bei den Kontrollen war innerhalb der Beobachtungszeit die Leukämie-Todesrate der Männchen nicht signifikant verschieden von der der Weibchen. Sämtliche bisher gestorbenen Tiere zeigten die

Tab. I. Behandlung von AKR-Mäusen mit IgG von Ziegenantiserum gegen gp71 des Friend-Leukämie-Virus.

Vers.-Gruppe	Behandlung		ml IgG injiz. p. Maus	Anzahl der Mäuse
	von (Alter)	bis (Alter)		
1	6 Mon.	7 Mon.	3,4	20
2	2 Mon.	3 Mon.	3,4	27
3	3 Tage	45 Tage	2,65	41
4	Mutter und Babys 3 Tage alt	a	a	8
		45 Tage	2,65	58

a Impfungen der Mutter wurden zu verschiedenen Zeiten vor der Geburt begonnen (3–18 Tage) und bis zum 2. bzw. 3. Tage nach der Geburt fortgeführt. Je Mutter wurden bis zu 2,6 ml IgG injiziert.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

für AKR-Leukämie charakteristischen Symptome. Anzeichen für eine Serumkrankheit wurden unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen nicht beobachtet. Weitere Einzelheiten der Versuchsansätze können aus Tab. I entnommen werden. Wie daraus hervorgeht, wurden 4 verschiedene Versuchsgruppen angesetzt, in denen die Tiere jeweils in einem verschiedenen Lebensalter behandelt wurden. In Gruppe 4 wurde damit schon vor der Geburt bei der Mutter begonnen. Dieselbe Injektionsnadel wurde jeweils nur für die Angehörigen der gleichen Familie verwendet.

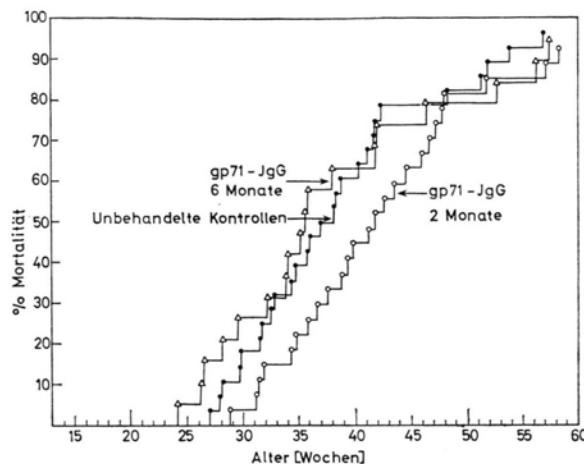


Abb. 1. Kumulative Mortalitätskurven der Mäuse von Versuchsgruppe 1 und 2. Behandlung der Tiere mit gp71-Antikörper vom 2. bzw. 6. Lebensmonat ab. Amerikanische Mäuse. Zahl der eingesetzten Tiere: Kontrollen 28; 6 Mon. 20; 2 Mon. 27.

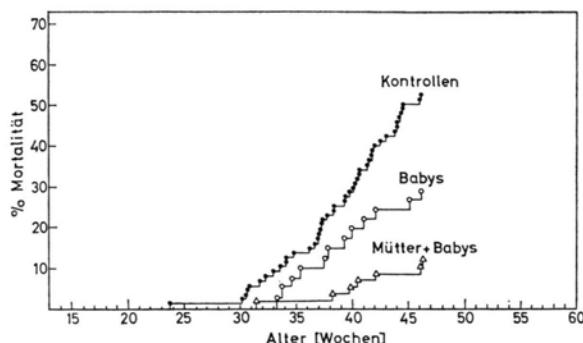


Abb. 2. Kumulative Mortalitätskurven der Mäuse von Versuchsgruppe 3 und 4. Behandlung mit gp71-Antikörper: Babys vom 3. Lebenstage ab, bzw. Mütter und Babys. Dänische Mäuse. Zahl der eingesetzten Tiere: Kontrollen 87; Babys 41; Mütter und Babys 58.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse fassen die in Abb. 1 und 2 wiedergegebenen Mortalitätskurven zusammen. Sie zeigen, daß sich durch Impfung mit Antikörper gegen FLV gp71 ein Schutz auch gegen das Auftreten der spontanen AKR-Leukämie erreichen läßt. Sein Ausmaß hängt aber eindeutig davon ab, in welchem Alter die Behandlung einsetzt. Be-

ginnt sie im 6. Lebensmonat (Abb. 1), ist kein Erfolg zu sehen. Eine relativ schwache Wirkung zeichnet sich ab, wenn sie im Alter von 2 Monaten beginnt (Abb. 1); die Tiere überleben dann die unbehandelten Kontrollen im Durchschnitt um 4–6 Wochen. Eindeutiger ist der Erfolg, wenn bald nach der Geburt (3 Tage) mit den Impfungen begonnen wird (Abb. 2). Die beste Wirkung wurde in Gruppe 4 erzielt, in der bereits die Mütter behandelt wurden (Abb. 2). Das entsprechende Ergebnis gewinnt noch an Gewicht, wenn man bedenkt, daß hier von den bisher gestorbenen 7 Mäusen 6 nur zwei Familien angehören, die ursprünglich aus insgesamt 15 Mitgliedern bestanden. Von den übrigen 6 Familien (zusammen 43 Mitglieder) starb demgegenüber insgesamt nur ein Tier. Bei den Kontrollen wurde eine derartige, offenbar familienabhängige Verteilung der Krankheitsdurchbrüche nicht beobachtet, wohl aber bis zu einem gewissen Grade in Versuchsgruppe 3 (Behandlung ab 3. Tag). Worau auf dieses Phänomen zurückzuführen ist, läßt sich z. Z. noch nicht entscheiden. Womöglich spielt dabei eine Rolle, daß bei unserem Impfmodus Übertragungen durch das Impfbesteck nur innerhalb der Familien möglich waren. Läßt man in Gruppe 4 (Impfung von Mutter und Babys) die beiden hauptsächlich betroffenen Familien außer Betracht, ergibt sich für die restlichen 43 geimpften AKR-Mäuse bis zum Alter von 46 Wochen eine Todesrate von nur 2.3% gegenüber 53% bei 87 unbehandelten Kontrollen. An der Signifikanz eines solchen Ergebnisses sind wohl kaum Zweifel möglich.

Um die Situation weiter zu klären, werden die Versuchsmäuse noch bis zum Alter von 1½ Jahren beobachtet und weitere angesetzt, die mit Normal-IgG geimpft werden bzw. solche, bei denen die Behandlung mit gp71-IgG sich auf die Mütter beschränkt. Außerdem werden die Versuchstiere noch auf das Auftreten von Virus und Antikörpern geprüft.

Über ähnliche Erfolge bei AKR-Mäusen wurde kürzlich von Huebner *et al.* berichtet⁸, die mit der Antikörper-Behandlung generell am ersten Lebenstag begannen. Sie verwendeten aber ein komplexes Antiserum, das gegen gereinigtes Gesamt-AKR-Virus, welches regelmäßig noch mit größeren Mengen von Normal-Antigenen verunreinigt ist, in einer Ziege erzeugt wurde, und können deshalb keine Aussage über die Natur des wirksamen Antikörpers machen. Außerdem neigen sie zu der Ansicht, daß nur typspezifischer Antikörper wirksam ist. Wenn dies der Fall sein würde, wäre die Anwendungsmöglichkeit der Methode nur sehr beschränkt und ihre Praktizierung beim Menschen – die u. U. einmal in Frage kommen könnte – kaum möglich.

Unsere bisher vorliegenden Ergebnisse lassen dem gegenüber erkennen, daß schon Antikörper gegen eine einzelne Viruskomponente, nämlich gp71, ausreichen, und daß auch im Organismus die breiter reagierenden antigenen Determinanten dieses Moleküls, einschließlich der interspecies Determinante⁵, zum Tragen kommen. Zu klären bleibt vor allem

noch, auf welche Weise der injizierte Antikörper wirkt. Nach unseren, bei den früheren Untersuchungen gewonnenen Erfahrungen scheint der Erfolg auf einer kombinierten Aktion des heterologen Antikörpers und der wirtseigenen Immunabwehr zu beruhen³; wenn die letztere wieder zur Wirkung kam, konnte eine lebenslängliche Heilung erzielt werden.

¹ W. Schäfer u. D. P. Bolognesi, Contemporary Topics in Immunobiology Vol. 6 (M. G. Hanna, jr., u. F. Rapp, ed.), pp. 127, Plenum Press, New York u. London 1977.

² G. Hunsmann, V. Moennig u. W. Schäfer, *Virology* **66**, 327 [1975].

³ W. Schäfer, H. Schwarz, H.-J. Thiel, E. Wecker u. D. P. Bolognesi, *Virology* **75**, 401 [1976].

⁴ W. Schäfer, M. Claviez, H. Frank, G. Hunsmann, V. Moennig, H. Schwarz, H.-J. Thiel, D. P. Bolognesi, R. W. Green, A. J. Langlois, P. J. Fischinger u. F. de Noronha, Seventh International Symposium on Comparative Leukemia Research and Related Diseases (J. Clemmesen u. D. S. Yohn, ed.), S. Karger AG, Basel 1976.

⁵ F. de Noronha, W. Schäfer, R. Baggs u. D. P. Bolognesi, *Nature*, im Druck.

⁶ V. Moennig, H. Frank, G. Hunsmann, I. Schneider u. W. Schäfer, *Virology* **61**, 100 [1974].

⁷ G. Hunsmann, M. Claviez, V. Moennig, H. Schwarz u. W. Schäfer, *Virology* **69**, 157 [1976].

⁸ R. J. Huebner, R. V. Gilden, R. Toni, R. W. Hill, R. W. Trimmer, D. C. Fish u. B. Sass, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **73**, 4633 [1976].

E. Seifert u. H. Sinner danken wir für ihre Mitarbeit.