

Der Mäuse-Inzuchtstamm STU. Entwicklung und Eigenschaften

The Inbred Mouse Strain STU.
Development and Properties

W. Schäfer

Max-Planck-Institut für Virusforschung, Spemannstr. 35/III,
D-7400 Tübingen

Z. Naturforsch. 34 c, 306–309 (1979);
eingegangen am 7. Februar 1979

Inbred Mice, Tumors, Oncorna Viruses,
Immunological Reactivity

The highly inbred STU mouse strain (up to 100 inbred generations) was developed from a German white mouse colony. Its properties are described with special emphasis on the occurrence of tumors, occurrence of C-type oncorna-viruses and on its immunological reactivity. The predominant tumor is a fibrosarcoma (~23% incidence).

Im Jahre 1950 wurde in der „Abteilung Virusforschung“ des Max-Planck-Instituts für Biochemie (später „Max-Planck-Institut für Virusforschung“) in Tübingen damit begonnen, einen Mäuse-Inzucht-Stamm (Schäfer, Tübingen = STU) herauszuzüchten. Er sollte vor allem weitgehend frei von latenten Virusinfektionen sein, daneben eine gute immunologische Reaktivität besitzen und außerdem eine möglichst geringe spontane Tumorraten aufweisen. Da dieser Stamm bzw. von ihm abgeleitete Gewebekulturen mittlerweile von zahlreichen Instituten verwendet werden, erscheint es erforderlich, Entwicklung und Eigenschaften desselben einmal kurz zu beschreiben.

Benutzt wurden für die Inzucht rein weiße Mäuse, die uns Prof. Dr. R. Gönnert, BAYER, Wuppertal-Elberfeld, überließ. R. Gönnert hatte diesen Stamm ursprünglich von Prof. Dr. R. Bieling, Behring-Werke, Marburg, erhalten. Latente Virusinfektionen waren nach den Angaben beider Kollegen bei den Mäusen bis dahin nicht festgestellt worden. Angesetzt wurden zunächst 6 Familien, von denen wir schließlich die Nachkommen einer Familie, die unseren Anforderungen am besten zu entsprechen schien, für die weitere Inzucht auswählten. Mäuse der 32. Inzestgeneration wurden 1958 Prof. Dr. O. Mühlbock, van Leeuwenhoek Institut, Amsterdam, (dort als TSJ/A-Stamm bezeichnet) und solche der

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. Schäfer.
0341-0382 / 79 / 0300-0306 \$ 01.00/0

44. Generation 1961 Prof. Dr. K. Munk, Krebsforschungszentrum, Heidelberg, zum Aufbau eigener Kolonien überlassen. Von STU-Mäusen der 60.–70. Inzestgeneration wurde im Max-Planck-Institut für Virusforschung eine größere Vermehrungszucht aufgebaut. Für unsere virologischen Arbeiten wurden in der Folge fast ausschließlich Tiere dieser Zucht verwendet. Außerdem wurden sie an mehrere in- und ausländische Institute abgegeben. Die hochin gezüchteten Mäuse haben in ausgewachsenem Zustand folgende Durchschnittsgewichte:

Weibchen: $21,6 \pm 1,6$ g,

Männchen: $28,5 \pm 1,9$ g.

Die Würfe bestehen bei älteren Müttern im Durchschnitt aus $7(\pm 2)$ Tieren. Inzwischen wurde die Inzucht bis zur 100. Inzestgeneration weitergeführt. Die folgenden Angaben beziehen sich jedoch auf Tiere der 60.–70. Generation. Wesentliche Abweichungen von deren Eigenschaften wurden bei den höher in gezüchteten Mäusen bisher nicht festgestellt.

Langzeitbeobachtung eines größeren Kollektivs von STU-Mäusen

Im Jahre 1975 wurden 97 jungfräuliche Weibchen unserer Vermehrungszucht angesetzt und bis zu ihrem natürlichen Tode beobachtet. Von sämtlichen gestorbenen Tieren wurden die Sektionsbefunde registriert. Bei 76 von ihnen wurden darüberhinaus die Milzen und, falls Tumoren vorhanden waren, auch diese serologisch auf Vorkommen von Maus-C-Typ-Onkorna-Viren (MuLV) geprüft (10-prozentige Extrakte). Verwendet wurde dafür der Komplementbindungs test (KBR) zum Nachweis der Viruskomponente p31, für den wir ein mit den gruppen- und interspecies-Determinanten dieses Virusproteins reagierendes spezifisches Kaninchen-Antiserum benutzten [1, 2]. Ergänzt wurde die serologische Kontrolle bei 13 Mäusen, die bis zum Alter von 23 Monaten starben, durch eine Prüfung der Extrakte auf infektiöses MuLV im XC-Test [2]. Dabei wurden für die Vermehrung des Virus embryonale STU-Zellen verwendet. Einige Ergebnisse dieses Langzeitversuchs sind in Abb. 1 zusammengefaßt.

Wie die kumulative Mortalitätskurve zeigt, haben die STU-Mäuse eine durchschnittliche Lebenserwartung von etwa 2 Jahren. Das höchste, allerdings nur von 2 Tieren erreichte Alter betrug 3 Jahre.

Tumoren traten gehäuft erst in einem Alter von > 2 Jahren auf. Gefunden wurden in einem Fall



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.

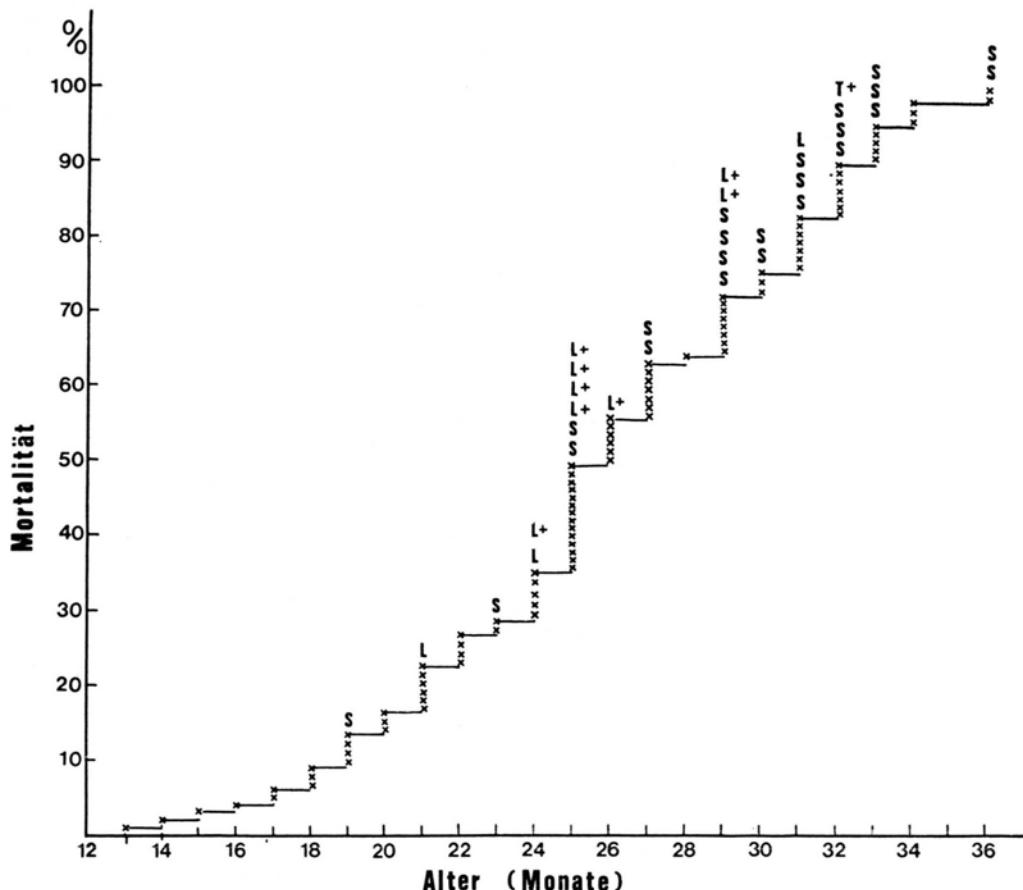


Abb. 1. Kumulative Mortalitätskurve von 97 STU-Weibchen mit Angaben über die aufgetretenen Tumoren. \times , gestorbene Maus; L, Maus mit leukotischen Veränderungen; T, Maus mit Thymom; S, Maus mit Sarkom. +, zeigt an, daß der betreffende Tumor nach Prüfung in der Komplementbindungsprobe MuLV-p31-Antigen enthielt.

(= 1% der Tiere) ein Thymom, in 11 Fällen (= 11,3%) Leukosen und in 22 Fällen (= 22,7%) Fibrosarkome. Mammatumoren wurden nicht beobachtet. Die leukotischen Veränderungen betrafen in erster Linie Milz, Lymphknoten und Leber, gelegentlich auch Nieren und Ovarien. Die Sarkome wurden vor allem im subkutanen Gewebe gefunden und erreichten bis zu Kastaniengröße; bei 5 Tieren waren ausgedehnte Metastasen, zum Teil in den Körperhöhlen, zu beobachten. Von den 34 Mäusen, die ab dem 29. Lebensmonat starben, fielen nicht weniger als 50% dem Sarkom zum Opfer.

Die Prüfung auf MuLV verlief bei den bis zum Alter von 23 Monaten sterbenden Tieren negativ und zwar sowohl in der KBR als auch im XC-Test. Von den später verendenden Mäusen, bei denen – wie vorher erwähnt – routinemäßig nur noch die KBR durchgeführt wurde, reagierten 10 von 56 geprüften

Tieren serologisch eindeutig positiv. Bemerkenswert ist, daß 8 der Reagenzien zu den Tieren gehörten, die leukotische Erscheinung bzw. ein Thymom zeigten (s. Abb. 1). In den Sarkomen dagegen ließ sich MuLV-p31 durch die KBR niemals nachweisen.

Die Sarkome haben wir z. T. noch weiter untersucht. Sie konnten in 3 geprüften Fällen ohne Schwierigkeiten auf 2–12 Wochen alte STU-Mäuse übertragen werden, die dann nach 2–3 Wochen deutlich fühlbare, z. T. kirschgroße Geschwülste zeigten. Auf diese Weise wurden bis zu 25 Tierpassagen durchgeführt. Auch die Anzüchtung der Tumorzellen in der Gewebekultur gelang ohne Schwierigkeiten. Zu sehen waren hier langgestreckte, fibroblastoide Zellen. Sowohl die Tumoren als auch die Gewebekulturen (5. bzw. 11. Kulturpassage) wurden mit verschiedenen Verfahren auf das Vorkommen von MuLV geprüft. Angewendet wurden

neben der KBR mit p31-Serum und dem XC-Test in diesen Fällen noch der hochempfindliche Radioimmun-Kompetitions-Test (Nachweisbarkeitsgrenze ~5 ng) für AKR-p12 und p31 [1]. Ein Tumor wurde außerdem im Elektronenmikroskop (Dünnschnitte) untersucht. Sämtliche Prüfungen auf MuLV verliefen negativ. Im Elektronenmikroskop ließen sich auch keine Viren anderer Art nachweisen.

Weitere Beobachtungen beim STU-Stamm

Die im folgenden zusammengefaßten Ergebnisse wurden im Laufe der Jahre in unserem und anderen Instituten gesammelt. Wie bereits die vorher beschriebenen, bei leukotischen Tumoren gewonnenen KBR-Ergebnisse zeigten, müssen die STU-Mäuse endogenes MuLV enthalten. In einem Falle gelang es, ein solches Virus aus einer Permanentkultur embryonaler STU-Zellen zu isolieren. Nach Neutralisationsversuchen (P. Fischinger, Bethesda) handelte es sich um ein C-Virus des AKR-Typs.

Gegen C-Virus dieses Typs werden von den Tieren auch spontan Antikörper gebildet [3]. Sie sind ge-

gen die typspezifische Determinante des Virusoberflächen-Glykoproteins gp71 und gegen die gruppen- bzw. interspecies-spezifische Determinante der Viruskomponente p15(E) gerichtet. Die entsprechenden Titer liegen durchschnittlich höher als bei anderen untersuchten Mäuseinzungstümmlen. Im Radioimmun-Präzipitationstest schwankten sie zwischen 1/5 000 und 1/10 000 [3].

Wahrscheinlich ist es auf die Wirkung dieser autologen Antikörper zurückzuführen, daß AKR-Mäuse, die durch STU-Ammen gesäugt wurden, später an Leukämie erkranken als entsprechende Kontrollen (s. Abb. 2).

Die Tiere des STU-Stammes gehören außerdem zu den Mäusen, die in relativ hohem Titer in ihrem Serum einen Faktor enthalten (kein Antikörper), welcher die Infektiosität gewisser MuLV's inhibiert. Er wirkt vor allem auf xenotropes MuLV [4].

Mammatumoren wurden ebenso wie im vorher beschriebenen Langzeitversuch auch in unserer Vermehrungszucht nicht beobachtet, obwohl sie bei Tieren der ersten Inzestgenerationen noch verein-

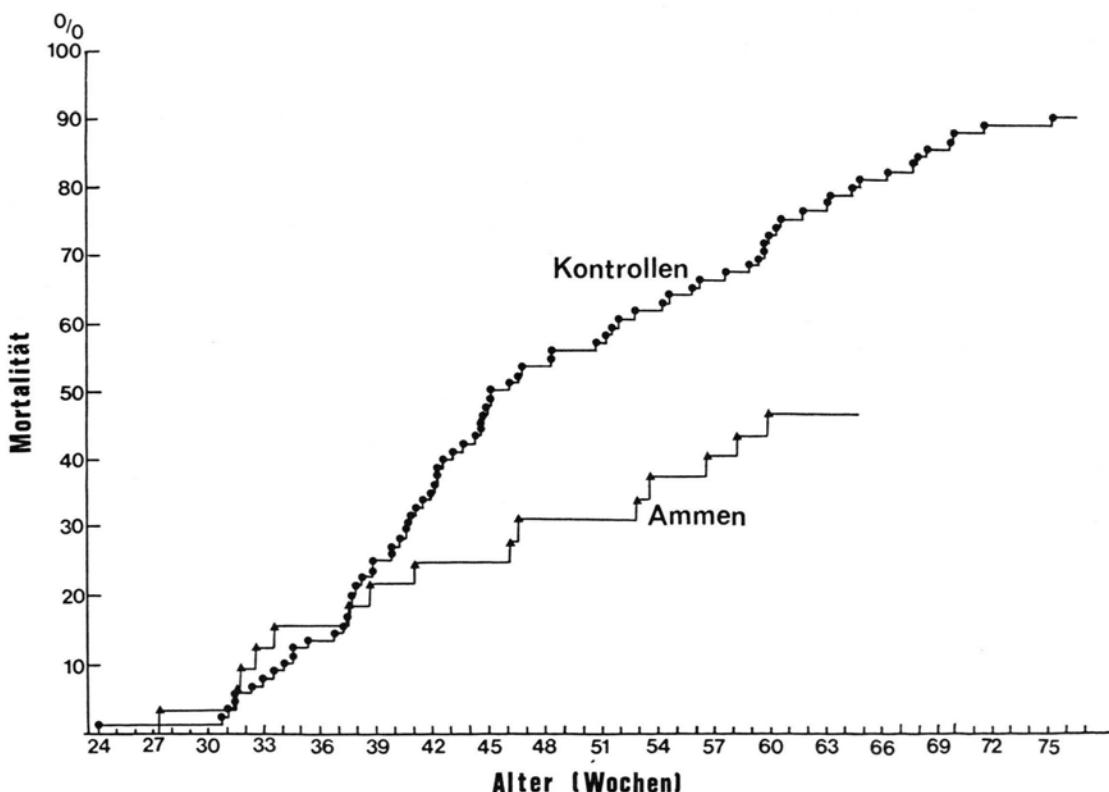


Abb. 2. Kumulative Mortalitätskurven von 87 normal aufgezogenen AKR-Mäusen (Kontrollen) und 32 AKR-Mäusen, die von STU-Ammen gesäugt wurden (Ammen). Im Alter von 62 Wochen $p < 0.005$.

zelt auftraten. Über die in Amsterdam gehaltene Kolonie teilte O. Mühlbock dem Autor kürzlich mit: „Auffallend ist, daß der Stamm spontan keine Mammatumoren hat, wohl dagegen Fibrosarkome, meistens subkutan“.

Nach künstlicher Infektion mit Friend-, Rauscher-, Moloney-Sarkom und Schmidt-Ruppin-Rous-Sarkom Onkorna-Viren zeigen STU-Mäuse regelmäßig die charakteristischen Krankheitserscheinungen. Außerdem sind sie hochempfänglich für Infektionen mit Influenzaviren (einschließlich Virus der klassischen Geflügelpest (KP)), Enzephalomyokarditis- und Choriomeningitis-Virus. Gegen Influenzaviren, insbesondere gegen K.P.-Virus, ließen sich von ihnen potente komplementbindende und neutralisierende Antiseren gewinnen [5].

Endoparasiten wurden bei STU-Mäusen bei einer kürzlich im „Zentralinstitut für Versuchstiere der Deutschen Forschungsgemeinschaft“ in Hannover durchgeführten Untersuchung nicht nachgewiesen.

Diskussion und Zusammenfassung

Die STU-Inzest-Mäuse (60.–70. Inzestgeneration) zeichnen sich durch eine relativ gute Fruchtbarkeit und gutes Antikörper-Bildungsvermögen aus. Sie sind empfänglich für Infektionen mit den verschiedensten Virusarten einschließlich C-Typ-Onkorna-Viren. An latenten Viren wurde bei ihnen bisher nur ein ekotropes MuLV vom AKR-Typ nachgewiesen.

Tumoren werden bei STU-Mäusen gehäuft erst im hohen Alter (>2 Jahre) gefunden. Die Anzahl der Tiere mit leukotischen Veränderungen bzw. mit Thymom ist relativ gering. Wahrscheinlich werden

diese Tumoren durch endogenes MuLV hervorgerufen, dessen p31 in den meisten von ihnen nachgewiesen werden konnte. Es ist naheliegend anzunehmen, daß der hohe natürliche Antikörperspiegel gegen AKR-Virus, der bei STU-Mäusen im präsenilen Alter gefunden wurde, eine frühere onkogene Wirkung des endogenen Agens verhindert (Immunsuppression MuLV-induzierter Tumoren [3]). Womöglich wirkt ein in ihrem Serum enthaltener Inhibitor, der nach neuesten Untersuchungen [6] im wesentlichen aus Lipid besteht, im gleichen Sinne. Er verhindert vor allem die Infektionsfähigkeit von xenotropem MuLV [4]. Die am häufigsten bei alten STU-Mäusen beobachteten Tumoren sind Fibrosarkome. Der Prozentsatz der daran erkrankten Tiere (~23%) ist wesentlich höher als bei anderen Inzuchtstämmen (1–7%) [7]. In diesen Tumoren konnte bisher kein Virus nachgewiesen werden. Sie lassen sich ohne Schwierigkeiten in Maus-Passagen weiterführen; außerdem können die entsprechenden Zellen leicht in Gewebekulturen gezüchtet werden. Dieses STU-Sarkom dürfte deshalb gut als Modell für Studien über bösartige solide Tumoren geeignet sein. Weitere Tumoren (insbesondere Mamma-Karzinome) wurden bei STU-Mäusen bisher nicht gefunden.

Die genetische Untersuchung des STU-Stammes wird z. Z. in anderen Instituten durchgeführt.

P. Giebler, F. Kurz, M. Schorpp, O. Sinner und H. Sinner danke ich für ihre Mithilfe beim Aufbau und der Betreuung der Zucht, P. J. Fischinger, J. N. Ihle, L. Pister, H. Schwarz, E. Seifert und F. Weiland für die Untersuchung von Materialien von STU-Mäusen, O. Mühlbock für wichtige Informationen.

- [1] H. Schwarz, P. J. Fischinger, J. N. Ihle, H.-J. Thiel, F. Weiland, D. P. Bolognesi u. W. Schäfer, *Virology*, im Druck.
- [2] R. W. Green, D. P. Bolognesi, W. Schäfer, L. Pister, G. Hunsmann u. F. de Noronha, *Virology* **56**, 565 (1973).
- [3] J. N. Ihle, J. C. Lee u. M. G. Hanna jr., *Getlinburg Symp.: The Biology of radiation carcinogenesis* (J. M. Yuhas, A. W. Tennant u. J. D. Regan, ed.), p. 261, Raven Press, New York 1976.
- [4] P. J. Fischinger, J. N. Ihle, D. P. Bolognesi u. W. Schäfer, *Virology* **71**, 346 (1976).
- [5] W. Schäfer, *Z. Naturforsch.* **10b**, 81 (1955).
- [6] R. C. Montelaro *et al.*, in Vorbereitung.
- [7] Ch. G. Crispens, *Handbook on the Laboratory Mouse*, Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill., p. 179 (1975).