

PD Dr. med. Wilfried Bieger
Privat-Praxis für Neurostress - München
Mehr Info: www.Dr-Bieger.de
Kontakt: wilfried.bieger@t-online.de – 089 -5432 170

PD Dr. med.
Wilfried Bieger

Privat-Praxis für Neurostress
München

Epstein-Barr Virus

Januar 2012

Epstein Barr Virus

Der Epstein-Barr Virus (EBV; HHV4) ist einer von acht bekannten humanen Herpesviren, genetisch stabile DNA-Viren, die alle nach lytischer Erstinfektion mit Virusreplikation in suszeptiblen Zellen lebenslang im Organismus als asymptomatische latente Infektion persistieren. Die Koexistenz von Virus und Wirt („Host“) wird durch das Immunsystem geregelt. Herpesviren sind sowohl Herausforderung als auch Trainingspartner der Immunabwehr.

Die Erstinfektion erfolgt meist unerkant im Kindesalter über Speichelkontakt, eher selten wie ein grippaler Infekt im Sinne einer infektiösen Mononukleose (IM). Nicht selten kommt es allerdings erst im Erwachsenenalter zur Erstinfektion. In 25% dieser Fälle entwickelt sich eine infektiösen Mononukleose (Pfeiffer'sches Drüsenfieber), charakterisiert durch Fieber, Halsschmerzen, Lymphadenopathie, evtl. auch Hepatitis. Im Blut sind große „mononukleäre Zellen“ zu finden, bei denen es sich hauptsächlich um aktivierte CD8-positive T-Zellen handelt. Außerdem zirkulieren in der akuten Phase infizierte B-Zellen (bis zu 10% des gesamten B-Zellpools).

Normalerweise klingt die Primärinfektion der IM komplikationslos innerhalb kurzer Zeit (maximal 6 Wochen) ab. Ein relevanter Anteil (ca. 25%) der IM-Fälle geht jedoch mit protrahierter Symptomatik einher, die bis zu einem Jahr, selten auch länger andauern kann („post-infektiöses Fatiguesyndrom“). Das chronische Fatiguesyndrom (CFS zw. ME/CFS) wird daher häufig mit atypisch verlaufenden EBV –Infektionen oder EBV-Reaktivierung in Verbindung gebracht.

Der lytische Zyklus der Primärinfektion läuft wie bei allen Herpesviren in mehreren Stufen ab, beginnend mit der Expression von „*Immediate Early Antigenen*“, gefolgt von „*early*“ und „*late*“ Antigenen. Der serologische Infektionsnachweis basiert auf dieser Antigensequenz: zuerst entwickeln sich Antikörper gegen „*early*“ Antigene (EBV-EA-IgM- und später IgG-Antikörper), dann Antikörper gegen EBV-VCA (IgM– gefolgt von IgG-AK) und zuletzt in der Abklingphase Antikörper gegen nukleäre EBV-Antigene, speziell gegen EBNA1–IgG-AK.

Im Ablauf der Immunantwort kommt es zur Affinitätsreifung der IgG-Antikörper. Die EBNA1-AK sind das Charakteristikum der erfolgreichen immunologischen Bewältigung der Infektion. In seltenen Fällen weicht die serologische Immunantwort vom Normalfall ab: z.B. Persistenz von VCA-IgM-Ak; häufiger Fehlen von EBNA1-AK nach der Infektion, was möglicherweise inkomplette immunologische Viruskontrolle bedeutet.

EBV-Reinfektionen kommen (im Unterschied zu CMV) nicht vor. Primär chronische Infektionen sind äußerst selten und eine besonders schwere immunologische Komplikation. EBV-Reaktivierungen ggf. bis zu lytischer Replikation sind dagegen ein häufigeres Phänomen, sie sind mit den beschriebenen serologischen Tests nicht von der unkomplizierten, latenten Infektion zu unterscheiden, da bei der Reaktivierung keine IgM-Antikörper mehr auftreten, AK gegen early-Antigene nicht aussagefähig sind (IgG) und Titeranstiege meist wegen fehlender Vergleichswerte nicht erkennbar sind. Außerdem können EBV-Antikörper auch bei Immunaktivierung anderer Genese im „Bystander“-Sinne unspezifisch ansteigen.

Während die normale Serologie demnach keine Hilfe für die Frage der latenten oder lytischen Reaktivierung ist, können im EBV-Westernblot (Recomline EBV) allerdings weitere Intermediär-Antigene eingesetzt und eher Hinweise auf das Ausmaß der Reaktivierung gefunden werden.

Der Virus gelangt im Rahmen der Erstinfektion in Epithelien des Rachenrings, wo er sich vermehrt und später auch lebenslang persistiert. Von hier aus infiziert er B-Zellen in der benachbarten Mukosa, die sich vermehren, in den Lymphfollikeln des Rachenrings ausbreiten und als langlebige B-Memoryzellen später ein immunologisches Gedächtnis etablieren. Während der lytischen Primärinfektion gelangen infizierte B-Zellen aus dem lokalen B-Memorypool in die Blutbahn. Im Verlauf der lebenslangen latenten Infektion kommt es immer wieder zu spontanen lytischen Zyklen mit Freisetzung von Virus („Virus-Shedding“). Niedrige Virusmengen finden sich daher meist im Speichel und in äußerst geringer Menge auch im Blut (1 – 50 latent infizierte Zellen pro 1 Mio B-Zellen). Bei pathologischer lytischer Reaktivierung sind regelmäßig Viren in Speichel und Blut nachzuweisen.

In der lytischen Primärinfektion können bis zu 40% der zirkulierenden CD8-positiven T-Zellen EBV-spezifisch sein, während der latenten lebenslangen Infektion liegt ihr Anteil am zirkulierenden T-Zellpool nur noch bei 0,1-5 %.

Im Unterschied zu den (CD8-positiven) T-Zellen scheinen NK-Zellen keine zentrale Rolle bei der Kontrolle der EBV-Infektion zu spielen. Sie können allerdings die Transformation der B-Zellen durch EBV mittels IFN-gamma hemmen. Die NK-Zellen des Oropharynx-Immunsystems gelten als besonders IFN gamma-aktiv.

Trotz der Viruspräsenz sind fast alle EBV-spezifischen T-Zellen während der latenten Infektion nicht im aktivierten Zustand, allerdings ist die Mehrzahl gegen die potentiell problematischen *lytischen* EBV-Epitope gerichtet (0,2 – 2% der CD8-Zellen im Blut) und nur 0,05-1% spezifisch für Latenzepitope. Mit dem Alter nimmt der Anteil EBV-spezifischer T-Zellen im Blut zu und kann bis zu 14% der gesamten CD8-positiven T-Zellen anwachsen, wobei allerdings die antivirale Aktivität nachlässt.

Im Vergleich zu den zytotoxischen CD8-positiven T-Zellen sind die CD4-positiven T-Zellen weit weniger in die EBV-Kontrolle involviert. In der akuten Infektionsphase kommt es zu keiner nennenswerten Expansion des CD4-Pools, der Anteil EBV-spezifischer CD4-Zellen am CD4-Gesamtpool bleibt lebenslang gering und liegt bei maximal 10 % der EBV-spezifischen T-Zellen.

Im Ex-vivo Test dominieren IFN-gamma sezernierende (CD4)TH1-Zellen. Nicht selten wird in vitro nur IFNgamma (und kein IL-2) gegen EBV-Antigene sezerniert. Es handelt sich fast ausschließlich um EBNA1-spezifische T-Zellen (TH1/CD4- oder CD8-Zellen). LMP1-Antigene induzieren dagegen fast nur IL-10 Reaktionen. CD8-Zellen der latenten Infektion sind bevorzugt gegen EBNA3-Virusepitope gerichtet.

Alle Beobachtungen weisen darauf hin, dass die CD8-T-Zellen entscheidend sind für die Bewältigung der EBV-Primärinfektion und die Kontrolle der B-Zellproliferation in der Latenz. Immunsuppression mit Hemmung der CD8-Zellen führt daher zu gefährlichen Exazerbationen der Infektion und gesteigertem Tumorrisiko, insbesondere für lymphoproliferative Erkrankungen.

Andererseits ist T- oder NK-Zell-Hyperaktivität ebenfalls problematisch. Überschießende Sekretion von TH1-Zytokinen (IFNgamma, TNFalpha) führt u.a. über exzessive Makrophagen-Aktivierung zur Hemmung der B-Zellkontrolle und begünstigt die EBV-Exazerbation.

Wie gelingt es EBV, der Immunabwehr lebenslang auszuweichen und einen Latenzstatus zu etablieren? EBV ist wie alle Herpesviren in der Lage, jegliche Antigenexpression in den latent infizierten (B)Zellen abzuschalten. Dazu kommt, dass die Konzentration von CD8-Zellen, die spezifisch für lytische EBV-Antigene

sind, im Rachenring sehr gering ist. Dies begünstigt auch das spontane Virusshedding während der Latenz.

Die pathologische lytische Reaktivierung wird heute mit verfeinerter Methodik erheblich häufiger gesehen als früher angenommen und kann bei übermäßigem TH1-polarem Verlauf kritisch werden. Sie wird intensiv als Ursache krankhafter Komplikationen wie z.B. des CFS geprüft. Auch der zunehmende Einsatz immunsuppressiver Therapien und die steigende Lebenserwartung erhöhen das Risiko EBV-assoziiierter Komplikationen.

Darüber hinaus wird EBV zunehmend mit der Entstehung anderer Erkrankungen in Verbindung gebracht, nicht nur lymphoproliferativer Erkrankungen: insbesondere für die Entstehung der multiplen Sklerose wird EBV ursächlich verantwortlich gemacht.

Konsequenzen für die Praxis

Die latente lebenslange EBV-Infektion ist immunologisch erheblich komplexer und aktiver als früher angenommen. Virus kann häufig im Speichel gefunden werden, in sehr niedriger Konzentration auch in zirkulierenden B-Zellen. Episoden lytischer Reaktivierung sind physiologisch, die Latenz stellt sich als abgestufte Reaktivierung dar mit der Maximalstufe der sporadischen lytischen Exazerbation. Die Immunreaktion gegenüber EBV ist durch IFN-gamma geprägt, weniger durch IL-2. Überschießende TH1-Reaktivität (IFNgamma, TNFalpha) kann zu Komplikationen führen.

Diagnostik

Die **EBV-Serologie** ist optimal geeignet für die Diagnostik der Primärinfektion, aber ungeeignet für die Reaktivierungsanalyse. Nur der erweiterte **EBV-Blot** (Recombiline) mit Identifizierung Phasen-typischer Antigene kann weiterführen.

Der Nachweis EBV-spezifischer T-Zellen im LTT oder im Zytokin-basierten Proliferationstest (ITT) bestätigt die EBV-Immunität (latente Infektion), kann aber keine sichere Aussage zur Aktivität der Infektion (Reaktivierung) liefern. Die Aussage des **ITT-EBV** geht dabei über die des LTT hinaus, da nicht nur die spezifische Immunität sondern darüber hinaus auch die Qualität bzw. das Muster der Zytokinantwort auf EBV-Antigene festgestellt werden kann.

Die Frage der Latenz bzw. Reaktivierung kann nur mit weitergehenden Testverfahren beantwortet werden.

Reaktivierungs-Analyse: Eine empfindlicherer Ansatz zur Differenzierung der Latenz- und Lysestadien ist die molekulargenetische Analyse der Expression von viralen Reaktivierungsantigenen in zirkulierenden B-Zellen, die für unterschiedliche Latenzstadien (Reaktivierungsstufen) von EBV charakteristisch sind. Die Verwendung von Spezialröhrchen (Paxgene RNA) ist hier unabdingbar, da die mRNA der betreffenden Antigene im Blut nicht stabil ist. Die mRNA-Quantifizierung der EBER-, LMP1- und EBNA1-Reaktivierungsantigene erlaubt eine Stadieneinteilung der EBV-Aktivität. Während EBER-Antigene fast immer exprimiert sind (Latenzstadium I), ist die LMP1-Expression typisch für Stadium II und die Expression aller drei Antigene für Stadium III.

Die **lytische Infektion** (Reaktivierung) kann durch Messung der freien Virusmenge (EBV-DNA) im EDTA-Plasma bei hoher lytischer Aktivität oder der EBV-DNA im Speichel auch bei geringerer Virusbelastung festgestellt werden. Allerdings ist bei letzterem zu berücksichtigen, dass auch bei normaler Latenz geringe Mengen viraler DNA im Speichel vorkommen.

Stufendiagnostik

1. EA-IgM, VCA-IgG/IgM *Primärinfektion*
Immunprofil mit B/T-Zellaktivierungsmarkern
2. VCA-IgG, EBNA-IgG (EA-IgG) *Latenzphase*
3. EBV-Blot *bei unklarer Serologie*
4. Virus (EBV-DNA) Speichel, Plasma *V.a. lytische Infektion bzw. Reaktivierung*
Immunprofil mit B/T-Zellmarkern HLADR, CD38, PD-1, CD20, CD23, etc.
5. EBER/LMP1/EBNA1-mRNA *Latenzdifferenzierung, Reaktivierung*

	EBNA1	LMP-1	EBERs
Latenz 0	-	-	+
Latenz I	+	-	+
Latenz II	+	(+)	+
Latenz III	+	+	+

Tabelle nach Kimura et al. Rev Med Virol 2008; 18:305

6. EBV-ITT (lat/lyt-Antigene: IFN γ , IL-2, IL-10) *T-Zellimmunität gegenüber EBV*
7. Zytokine (Serum): IFN γ , TNF α , IL-10