

Wie kommen die Antikörper ins Hühnerei?

Uli Lösch

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der Ludwig-Maximilians-Universität, D-München

Zusammenfassung:

In diesem Artikel wird die Bezeichnung IgG anstelle IgY für das beim Huhn dem Säuger-IgG physiologisch am ehesten entsprechende Immunglobulin verwendet. Es gelangt rezeptorabhängig aus dem Blutkreislauf des Huhnes in die heranreifenden Oozyten. Außerdem werden Spuren von IgA in die Oozyten transferiert. Im Dottersack zu findende IgM-Spuren stammen aus dem Sekret des Eileiters. Zwischen den fünf Kompartimenten Embryo, Eiklarsack, Dottersack, Amnion- und Allantoishöhle werden die Antikörper bewegt. Während der Inkubation verändern die verschiedenen Kompartimente ihr Volumen dynamisch, deshalb sind exakte Bilanzen schwer zu erstellen.

Summary: How do the antibodies get into the chicken egg? In this article the term IgG is used instead of IgY because it is the immunoglobulin in the chicken which relates physiologically strongest to the mammalian IgG. The IgG is transported into the ripening oocytes from the circulation of the hen by receptors. Additionally traces of IgA are being transferred into the oocytes. IgM traces in the yolk-sack are most likely synthesised there. Also, an infiltration of IgA and IgM into the egg-white may occur during the passage through the oviduct. The antibodies are being moved between five compartments: egg-white- and yolk-sack, amnion, allantois and blood circulation. During incubation these compartments change their volume dynamically wherefore exact balances are difficult to calculate.

Keywords: chicken, IgG, IgM, IgA, IgY, yolk-sack, amnion, allantois

1 Das Huhn in der Geschichte der Immunologie

Bereits sehr früh wurde zum ersten Male über die „Immunologie des Hühnchen“ berichtet. Selbstverständlich waren die Dotterantikörper dabei das zentrale Thema. Ein Untertitel aus Klemperers Arbeit „Über natürliche Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisierungstherapie“ (1893) lautet: „Die Immunität des Huhnes gegen Tetanusbazillen und ihre Übertragung durch das Eigelb“.

Nun, was bewirkten die Hühnchen in der Immunbiologie? Neben so grundlegenden Befunden wie der Dichotomie des Immunsystems (Glick et al., 1956) oder der Genkonversion (Reynaud et al., 1994) wurden durch die Forschung am Haushuhn z.B. die Tumoviren (Rous, 1911) oder das Interferon (Isaacs und Lindenmann, 1957) entdeckt. Über die durch Parabiose induzierte Immuntoleranz berichtete Hasek (1964) und über Anti-B-Agglutinine im keimfreien Haushuhn Springer und Horton (1964) auf dem damals vielbeachteten „Mosbacher Kolloquium über Immunchemie“.

Warum aber dauerte es so lange, bis z.B. Dotterantikörper in der einen oder

anderen Hinsicht eingesetzt wurden? Dies lag ganz eindeutig an der Haltungform. Während Pferde – zumindest die des Adels und des Militärs – auf hohem hygienischen Standard, d.h. weit besser gehalten wurden als ein Großteil der Menschen, kratzten die Hühner auf dem Mist. Deshalb wurden nicht nur im Institut Pasteur Antiseren fast ein Jahrhundert lang aus Pferden gewonnen.

Erst modernere Haltungsformen erlaubten eine wissenschaftliche Nutzung der Eiinhaltsstoffe.

2 Der Weg der Antikörper ins Ei

Von den zirkulierenden Antikörpern werden die IgG-Moleküle rezeptorabhängig in die auf dem Eierstock heranreifenden Oozyten, die Eifollikel transferiert (Kramer und Cho, 1970). Vor der Passage durch die Oozytenmembran wird entweder eine enzymatische Strukturänderung am IgG-Molekül induziert oder die Membran behindert selektiv eine IgG-Subpopulation am Transfer in den Eifollikel. Auf jeden Fall sind die IgG-Antikörper des Dotters im Gegensatz zu denen des Serums

zur Übertragung der passiven cutanen Anaphylaxie (PCA) unfähig (Faith und Clem, 1973).

Außerdem werden Spuren von IgA-Antikörpern in die Eifollikel transportiert (Kaspers et al., 1990). Letzteres wird seit langem vermutet, da dysgammaglobulinämische UM-B19-Hühner nicht nur erhöhte IgA-Konzentrationen im Serum, sondern auch gut meßbare IgA-Spiegel im Eidotter aufweisen (Tabelle 1, Gruppe I). Bei LSL-Kontrollhühnern liegen die IgA-Dotterkonzentrationen knapp über der Grenze der Erfassbarkeit (Tabelle 1, Gruppe III).

Es fällt auf, daß auch die normogammaglobulinämischen UM-B19-Hennen bei deutlich geringeren IgA-Serumwerten relativ hohe IgA-Konzentrationen im Dotter aufweisen (Tabelle 1, Gruppe II). Vielleicht ist dies eine Eigenheit der UM-B19-Linie. Auf jeden Fall war dies Anlaß, bei Leghorn-Hennen diesen Tatbestand zu klären. Ob diese minimalen IgA-Konzentrationen im Dotter von praktischer Relevanz sind, sei dahingestellt.

Mit Hilfe von Sedimentationsanalysen des Eidotters in der Ultrazentrifuge wurde eine 7 S-Komponente festgestellt (Lösch und Schuhmacher, 1971),

Tabelle 1: IgA-Konzentrationen in Seum und Dotter von dys(I)- und normo(II) gammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern sowie von Kontrollhennen (LSL-Hennen; III)

Gruppe		mg IgA per ml Dotter		mg IgA per ml Serum
I (n=12)	$\bar{x}$	0,406		2,845
	SD	0,087		0,550
	ratio	1	:	7
II (n=21)	$\bar{x}$	0,112		0,632
	SD	0,023		0,186
	ratio	1	:	5,6
III (n=24)	$\bar{x}$	0,017		0,358
	SD	0,017		0,131
	ratio	1	:	21

die – wie erwartet – als IgG identifiziert werden konnte. Die Überraschung war eine 17 bis 18 S-Komponente im Dottersackinhalt, die sich als IgM erwies. Es wurde über eine embryonale IgM-Synthese spekuliert, weil in unbrüteten Eiern keine Spur von IgM zu erfassen war. Auch bei dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hennen, die bis mehr als zehnfach höhere IgM-Serumkonzentrationen aufweisen, fand sich im Eidotter kein IgM. Wohl aber enthält das Eiklar geringe Mengen an IgM und IgA. Wie von Rose et al. (1974) später gezeigt wurde, werden diese Antikörper beim Transfer der Eizelle durch den Eileiter im Magnum zusammen mit dem Eiklar sezerniert und sind somit im Eiklar des gelegten Eies inkorporiert.

Wie lassen sich die Befunde: IgM-loses Ei / IgM-haltiger Dottersack vereinbaren? Bei Betrachtung des Entwicklungsprozesses im befruchteten Hühnerei finden sich statt der zwei Kompartimente Dotter und Eiklar fünf, nämlich Embryo, Eiklarsack, Dotter-

sack, Amnion- und Allantoishöhle. Zwischen diesen fünf Kompartimenten werden die im Dotter- bzw. Eiklarsack befindlichen Antikörper bewegt.

Ende der ersten Embryonalwoche beginnt der Transfer der IgG-Antikörper via Blutbahn in die Zirkulation des Embryos. Ungefähr am elften Tag reißt die Mesenchymschicht zwischen Eiklarsack und Amnionhöhle (= seroamnionische Verbindung) und gegen den zwölften Embryonaltag soll sich der Dottersack in den Eiklarsack öffnen (Hamilton, 1952). Aufgrund der jeweiligen Gradienten können nun IgM- und IgA-Antikörper in den Dottersack wandern, während umgekehrt IgG-Antikörper in den Eiklarsack und von dort – zusammen mit IgA- und IgM-Molekülen des Eiklars – in die Amnionhöhle gelangen, wo ein Teil der Antikörper vom Embryo abgeschluckt wird. Da während der Inkubation die verschiedenen Kompartimente ihr Volumen dynamisch verändern, sind exakte Bilanzen schwer zu erstellen (Tabelle 2).

Tabelle 2: Immunglobulin-Konzentrationen (mg/ml) in Eiklar und Dottersack bei LSL-Legehennen

		Dottersack			Eiklar		
		IgG	IgM	IgA	IgG	IgM	IgA
Frischei ¹⁾	$\bar{x}$	8,7	<0,008	0,017	<0,009	0,057	0,087
	SD	2,4	–	0,017	–	0,026	0,047
	(n)	(45)	(25)	(25)	(12)	(56)	(52)
21 Tage alter Embryo ²⁾	$\bar{x}$	3,8	0,145	0,207			
	SD	1,1	0,106	0,121	entfällt		
	(n)	(11)	(50)	(46)			

¹⁾ Eiklarvolumen: 32,4 ml; ²⁾ Dottersackvolumen: 8,7 ml

Insgesamt wird also IgG (plus einer Spur IgA) in die Oozyten transferiert, woraus es dann im Ei dem Embryo zugeführt wird. IgA- und IgM-Antikörper werden dem Eiklar bei der Passage des Eies durch den Eileiter zugemischt. Diese Antikörper gelangen schließlich in den Dottersack und werden in den ersten Tagen nach dem Schlupf aus diesem in den Dünndarm gepreßt, wo sie wohl die lokale Abwehr stärken sollen.

3 Nomenklatur der Immunglobuline des Huhnes

Da die in der Literatur unterschiedlichst gehandhabte Bezeichnung für Hühnerimmunglobulin zu Verwirrung führt, seien abschließend einige Bemerkungen zur Nomenklatur angefügt. Folgende Formulierung stammt aus dem Jahr 1972 (Lösch):

„Das langsamer sedimentierende Immunglobulin des Haushuhns unterscheidet sich somit in einigen Eigenschaften von den untersuchten Säugerimmunglobulinen der Klasse G: Aufgrund des isoelektrischen Punktes von 5,2 wandert es in der Elektrophorese mehr anodwärts. Alle Untersucher finden ein relativ höheres Molekulargewicht. Nach einer von Leslie und Clem (1969) zitierten persönlichen Mitteilung von Metha und Thomasi ergeben sich keine Kreuzreaktionen zwischen den H-Ketten von 7S-Hühnerimmunglobulinen und humanen γ -Ketten. Leslie und Clem (1969) schlagen die Bezeichnung IgY vor. Immerhin ähnelt dieses Hühnerimmunglobulin trotz der berechtigten Einwände von Tennenhouse und Deutsch (1966) und Leslie und Clem (1969) dem Säuger-IgG mehr als irgendeinem anderen Säuger-Immunglobulin. Vorbehaltlich eindeutig anderslautender Ergebnisse bleibt die Bezeichnung IgG bestehen.“

Dies gilt bis heute. Leslie und Clem waren keineswegs leichtfertig, als sie obiges Postulat erhoben. Dies zeigten unter anderem die später von Warr et al. (1995) zusammengestellten Befunde. Trotzdem wird in der allerjüngsten Literatur die Y-Kette des Huhnes dem Säuger-IgG näher verwandt als dem Säuger-IgE bezeichnet, und es wird auch bekundet, daß die transmembranösen Anteile vom Frosch-(Xenopus)-

IgY keine deutlichen Sequenzähnlichkeiten mit allen entsprechenden Strukturen der aviären „Ypsilon“ und den Säuger- γ - und ϵ -Ketten aufweisen (Mussmann et al., 1996).

Bezüglich des aviären IgA scheint seit den experimentellen Befunden von Mansikka (1992) keine nomenklatorische Frage mehr offen zu sein.

So wäre es vielleicht gar nicht falsch, auf die von vielen Forschern durchgehend benutzte Nomenklatur zurückzugreifen und auch beim Haushuhn von IgG, IgA und IgM zu sprechen.

Literatur:

- Faith, R. E. und Clem, L. W. (1973). Passive cutaneous anaphylaxis in the chicken. Biological fractionation of the mediating antibody population. *Immunology* 25, 151–164.
- Glick, B., Chang, T. S. and Japp, R. G. (1956). The bursa of Fabricius and antibody production in the domestic fowl. *Poultry Sci.* 35, 224–226.
- Hamilton, H. J. (1952). *Lillie's development of the chick. An introduction to Embryologie*. New York: Henry Holt.
- Hasek, M. (1965). *Immuntoleranz*. 15. Coll. Ges. Physiol. Chem., Mosbach, „Immunochemie“ April 1964. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Isaacs, A. and Lindenmann, J. (1957). Virus interference. The interferon. *Proc. R. Soc. B* 147, 258–268.
- Kaspers, B., Schraner, I. and Lösch, U. (1990). Immunoglobulin IgA in the yolk of chicken eggs. *J. Anim. Physiol. Animal. Nutr.* 63, 30–37.
- Klemperer, F. (1893). Über natürliche Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisierungstherapie. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 31, 365–382.
- Kramer, T. T. and Cho, H. C. (1970). Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hen's egg. *Immunology* 19, 157–167.
- Leslie, G. A. and Clem, L. W. (1969). Phylogen of immunoglobulin structure and function. 3. Immunoglobulins of the chicken. *J. Exp. Med.* 130, 1337–1352.
- Lösch, U. (1972). Zur Charakterisierung einer erblichen Dysgammaglobulinämie, Universität München: Habilitationsschrift.
- Lösch, U. und Schumacher, H. J. (1971). IgM im Dottersackinhalt von Hühnerküken. 3. Tagg. Ges. Immunologie, Marburg.
- Mansikka, A. (1992). Chicken IgA H chains: Implications concerning the evolution of H chain genes. *J. Immunol.* 149, 855–861.
- Mussmann, R., Wilson, M., Marcuz, A., Courtet and M., Du Pasquier L. (1996). Membrane exon sequences of the three Xenopus Ig classes explain the evolutionary origin of mammalian isotypes. *Eur. J. Immunol.* 26, 409–414.
- Reynaud, C. A., Bertocci, B., Dahan, A. and Weill, J. C. (1994). Formation of the chicken B-cell repertoire: ontogenesis, regulation of Ig gene rearrangement and diversification by gene conversion. *Adv. Immunol.* 57, 353–378.
- Rose, M. E., Orlans, E. and Buttes, N. (1974). Immunoglobulin classes in the hen's egg: their segregation in yolk and white. *Eur. J. Immunol.* 4, 521–523.
- Rous, P. (1911). A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from tumor cells. *J. Exp. Med.* 13, 397–411.
- Springer G. und Horton, R. E. (1964). *Probleme keimfreien Lebens*. 15. Coll. Ges. Physiol. Chem. 15, Mosbach, „Immunochemie“ April 1964. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Tenenhouse, H. S. and Deutsch, H. F. (1966). Some physical-chemical properties of chicken gamma-globulins and their pepsin and papain digestion products. *Immunology* 3, 11–20.
- Warr, G. W., Magor, K. E. and Higgins, D. A. (1995). IgY: Clues to the origins of modern antibodies. *Immunol. Today* 16, 392–398.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Uli Lösch
Institut für Physiologie,
Physiologische Chemie
und Tierernährung
Ludwig-Maximilians-Universität
Veterinärstraße 13
D-80539 München

