

Acta Medica Okayama

Volume 29, Issue 3

1975

Article 9

JUNE 1975

Ein Forschungsbericht über Immun-Insulitis bei Mäusen

Soji Okada*

Koichi Kawanishi†

Tadashi Ofuji‡

*Okayama University,

†Okayama University,

‡Okayama University,

Acta Med. Okayama 29, 237—240 (1975)

— BRIEF NOTE —

**EIN FORSCHUNGSBERICHT ÜBER IMMUN-INSULINITIS
BEI MÄUSEN**

Soji OKADA, Koichi KAWANISHI und Tadashi OFUJI

Aus der III. Med. Univ.-Klinik an der Univ. Okayama, Okayama, Japan

(Vorstand: Prof. Dr. T. Ofuji)

Received for publication, March 17, 1975

Obwohl Insulinitis (1) als spezifischer Befund bei Zuckerkrankheit bekannt ist, stellte sie bislang ein verhältnismäßig seltenes Phänomen dar. In neuerer Zeit aber häuften sich die Fälle, daß dieser Befund bei Jugendlichen (2) oder Erwachsenen (3), im Pankreas beobachtet werden konnte. Experimente haben erwiesen, daß sich im Pankreas von Säugetieren auf Grund aktiver Immunisierung mit Insulin lymphozytäre Infiltrate befinden. Es handelt sich um Rinder (4), Schafe (5), Kaninchen (6) und NMRI Mäuse (7). Freilich konnte das Krankheitsbild der Insulinitis zweifelsfrei nur bei den ersten drei Tierarten nachgewiesen werden. Im folgenden wollen wir über die Ergebnisse berichten, die unsere Forschungen über die Insulinitis bei Mäusen, die auf Grund aktiver Immunisierung durch Insulin auftrat, erbrachten.

Wir arbeiteten mit dd-stämmigen männlichen Mäusen bei einem Gewicht von $22,4 \pm 3,47$ g.

Wir bildeten Gruppen von je 10 Tieren und immunisierten die einzelnen Tiere je 2 mal, 3 mal, 4 mal, 5 mal und 7 mal. Wir lösten 0,4 mg Bovine Insulin (Lot. 121C-1350, 26,4 I.U./mg, SIGMA) in 0,25 ml HCl-Saline (pH 3,0), gaben eine gleiche Menge von Freund's complete adjuvant (FCA, IATRON) bei und injizierten diese Emulsion jeden Tier subkutan in die Rückengegend. Diese Immunisierung wurde in Abständen von 4 Wochen durchgeführt. Weiterhin richteten wir 5 aus je 5 Tieren bestehende Kontrollgruppen ein, um mit den immunisierten Gruppen entsprechende Vergleiche anstellen zu können. Diesen Tieren injizierten wir eine Lösung aus 0,25 ml FCA und 0,25 ml HCl-Saline (pH 3,0) in der gleichen Weise, wie oben beschrieben.

Wir entnahmen die Untersuchungsmaterialien nach Dekapitation der jeweiligen Tiere, die wir in einer Hungerzeit 4 Wochen nach der letzten Immunisierungsinjektion durchführten.

Wir benützten "Ethanol-Präzipitation-Technik" (8) und führten die radioimmunologischen Insulinbindungsantikörperwertmessungen mit 9 fach

verdünntem Blutserum durch. Der Insulinbindungsantikörperwert wurden durch das Verhältnis der Prozentsätze der gebundenen und der gesamten Mengen angegeben.

Wir zogen sofort nach der Dekapitation das Pankreas aus und brachten schnellstmöglich einen Teil des Materials in n-Hexan-Azeton-Trockengefrierfixation; den anderen Teil des Materials führten wir in Bouinsche Fixation über. Das erstere Material wurde mit Kryostat in 4 bis 5 μ dünne Scheibchen geschnitten und mit einer Lösung aus dem Kaninchen-Antiserum gegen die Maus IgG-verbunden mit FITC (Lot. 2226T003 A1, HYLAND) direkt gefärbt. Von den anderen Versuchstieren wurden en bloc je 5 Schnitte ohne besondere Sorgfalt hergestellt und mit H.E. gefärbt.

Bei den Kontrolltieren konnten keine Insulinbindungsantikörper festgestellt werden. Was die immunisierten Tiere angeht, kann das Ansteigen der bei ihnen gefundenen Insulinbindungsantikörperwerte aus Tabelle 1.

TABELLE 1 KORRELATION ZWISCHEN DEM AUFTRETEN DER INSULINBINDUNGSANTIKÖRPER (IBAK) UND DEM DER IMMUN-INSULITIS BEI DEN INSULIN-IMMUNISIERTEN MAUSEN

Immunisierungs-Wochen	8	12	16	20	28
I B A K (%)	32,0	35,7	48,2	34,3	9,2
Immun-Insulitis	0/7	0/6	0/5	1/4	2/4

ersehen werden. Von Interesse ist, daß klar ersichtlich wird, wie in der 8. Woche nach der Immunisierung schon beim gesamten Material deutlich ein Auftreten von Antikörpern zu beobachten ist, und wie sich diese Tendenz nachher weiter fortsetzt.

Bei 3 von 25 Kontrolltieren wurde lediglich im perivaskulären Bezirk eine aus neutrophilen Leukozyten bestehende leichte Zellinfiltration festgestellt. Bei den Insulin-immunisierten Tieren wurden folgende Veränderungen beobachtet:

a) Im Pankreas von 19 aus 26 Tieren wurde zwischen der 8. und 28. Woche eine periduktuläre Infiltration von kleinen, mononuklearen Zellen festgestellt; es handelte sich also um eine sogenannte Periduktulitis.

b) Zwischen der 12. und 28. Woche wurde in 5 von 19 Tieren eine periinsuläre Infiltration von gleichen Zellen festgestellt.

c) Eine auf Grund der Infiltration kleiner mononuklearer Zellen eingetretene Insulitis konnte von der 20. Woche an bei 1 von 4 Mäusen beobachtet werden, und in der 28. Woche erschien sie sogar bei 2 von 4 Tieren (Fig. 1).

Bei den Insulin-immunisierten Tieren konnte zwar in der periduktulären Bezirk eine spezifische Fluoreszenz beobachtet werden; im Bereich der Langerhansschen Inseln jedoch konnte keine spezifische Fluoreszenz nachgewiesen werden, nicht einmal im Insulitis-kranken Pankreas.

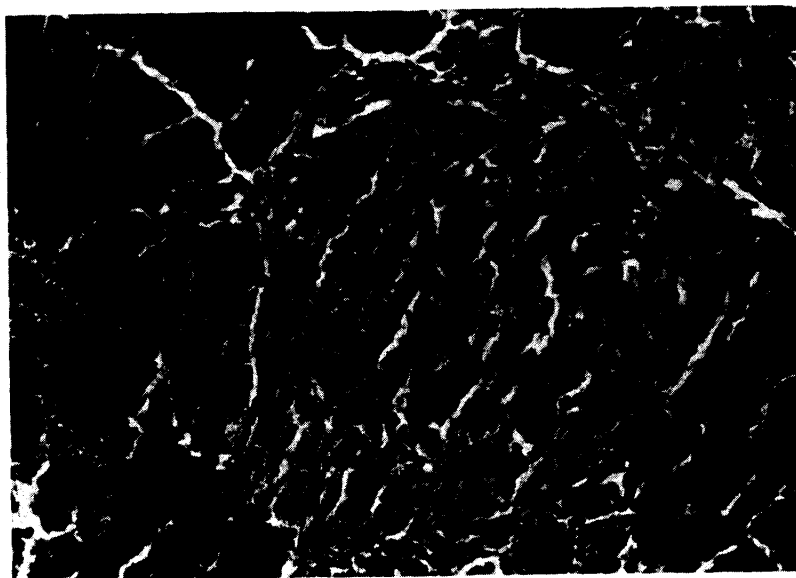


Fig. 1. Infiltration von kleinen, mononuklearen Zellen in einer Langerhansschen Insel bei der insulinimmunisierten Maus; Methode nach Hematoxylin und Eosin (Vergrößerung $\times 250$)

Die Insulitis ist ein interessantes Phänomen (2) auf dem Gebiet der pathologischen Anatomie der Zuckerkrankheit. Eine neuere Theorie behauptet nun, daß das Auftreten entzündlicher Infiltrate in den Langerhansschen Inseln Folge einer immunologischen Reaktion ist. Man nimmt an, daß diese Reaktion Ausdruck eines Auto-Immunsierungsprozesses gegen Inselgewebe oder Insulin ist. Diese Hypothese scheint durch einige Beobachtungen (4), (6), (7) gestützt zu werden, die man bei Fällen künstlich induzierter Insulitis in den letzten Jahren festgestellt hatte. Sollte es tatsächlich zutreffen, daß Immunologische Reaktion entsteht, wäre es interessant, diese Immunreaktion genauer zu untersuchen.

Wir gingen diesen Problem nach durch experimentelle Untersuchungen der Insulitis bei Mäusen, die mit Rinder-Insulin immunisiert worden sind. Monatelange sorgfältige Beobachtung dieser Mäuse erwies, daß schon in der 8. Woche im ganzen untersuchten Material Insulinbindungsantikörper auftraten und daß dann auch nach geraumer Zeit in der 20. Woche das Krankheitsbild der Insulitis zu erkennen war. Zwischen diesen beiden Befunden, nämlich dem Auftreten der Insulinbindungsantikörper und der Insulitis selbst erstreckte sich also ein Zeitraum von 12 Wochen.

Damit wird die Annahme, nach der die Antikörper direkt die Infiltration der kleinen mononuklearen Zellen hervorgerufen haben, als unzutreffend

erwiesen.

Weiterhin muß auch auf Grund der Tatsache, daß sich im Inneren der Langerhansschen Inseln kein IgG finden ließ, die Hypothese (9), daß die Insulitis aus der Bildung eines Immunkomplexes entstehe, als den wissenschaftlichen Befunden widersprechend erklärt werden.

Es ist noch undenkbar, daß die Insulitis in den Mäusen durch die Bildung eines Immunkomplexes geführt wird.

LITERATUR

1. VON MEYENBURG, H.: Über 'Insulitis' bei Diabetes. *Schweiz. med. Wschr.* **21**, 554, 1940
2. GEPTS, W.: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* **14**, 619, 1965
3. LeCOMPTE, P.M. and LEGG, M.A.: Insulitis (lymphocytic infiltration of pancreatic islets) in lateonset diabetes. *Diabetes* **21**, 762, 1972
4. RENOLD, A.E., SOELDNER, J.S. and STEINKE, J.: Immunologic studies with homologous and heterologous pancreatic insulin in the cow. *Ciba Foundation Colloquia Endocrinol.* **15**, 122, 1964
5. RENOLD, A.E.: In *Twelfth Symposium Dtsch. Ges. Endokrin.*, ed. Klein, E., p.45, Springer, Heidelberg, 1967
6. GRODSKY, G.M., FELDMAN, R., TORESON, W.E. and LEE, J.C.: Diabetes mellitus in rabbits immunized with insulin. *Diabetes* **15**, 579, 1966
7. JANSEN, F.K. and FREYTAG, G.: Immune reactions to fractions of crystalline insulin. I. Significance of lymphocytic infiltrates in the endocrine and exocrine pancreas of mice. *Diabetologia* **9**, 185, 1973
8. WELBORN, T.A., RICHARDS, R. and FRASER, T.R.: Simple test for insulin antibodies in sera, using ¹³¹I-insulin and ethanol precipitation. *Brit. Med. J.* **1**, 719, 1967
9. FEDERLIN, K.: In *Immunity and Autoimmunity in Diabetes mellitus*, ed. BASTENIE, P.A. and GEPTS, W., p. 183, American Elsevier, New York, 1974