

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand der Untersuchungen in dieser Arbeit war die biologische Aktivität eines Extraktes aus den Blättern von *Acanthospermum hispidum* (A.h.), einer tropischen Pflanze, die in der traditionellen Medizin in Benin verwendet wird. Mit Hilfe von in vitro Untersuchungen wurden zwei verschiedene biologische Aktivitäten des Extraktes - eine immunstimulatorische und eine antivirale - charakterisiert. Die Untersuchung der immunstimulatorischen Wirkung erfolgte dabei im Schweinemodell .

a) Die immunstimulatorische Aktivität von *Acanthospermum hispidum* (A.h.)

Es konnte gezeigt werden, daß A.h. die Proliferation porciner T-Lymphozyten nicht nur nach Aktivierung mit ConA, sondern auch nach Stimulierung mit dem Superantigen SEB und mit alloantigenen Stimulatorzellen in der Leukozytenmischkultur (MLC), steigern kann. Auch eine virusspezifische MHCII-restringierte Immunantwort gegen das Pseudorabiesvirus vermag der Extrakt kostimulatorisch zu verstärken.

Mit Hilfe von verschiedenen in vitro Testsystemen wurde die immunstimulatorische Aktivität von A.h. näher charakterisiert. Dazu wurde der Einfluß von A.h. auf T-Lymphozyten-spezifische Funktionen, wie die IL-2-Produktion, die T-Zellabhängige Immunglobulinsynthese, die Generierung MHC-restringierter alloantigenspezifischer zytolytischer T-Lymphozyten, die spontane zytolytische Aktivität und die lymphokin-aktivierbare zytolytische Aktivität untersucht. Dabei konnte der Wirkung des Extraktes eine leichte Erhöhung der IL-2-Produktion zugeordnet werden.

Bei der Untersuchung von separierten T-Lymphozytenfraktionen konnte ein dem kostimulatorischen Effekt zugrundeliegender Synergismus zwischen T-Helferzellen und  $\gamma\delta$  T-Lymphozyten identifiziert werden. Es wurde gezeigt, daß die "Zielzellen" des Extraktes beim Schwein  $\gamma\delta$  T-Lymphozyten sind und daß A.h. in der Lage ist, die Proliferation dieser Zellen bei Anwesenheit von Interleukin-2 deutlich zu verstärken.

Untersuchungen der in vitro Wirkung von A.h. auf die phänotypische Zusammensetzung von aktivierten T-Lymphozyten zeigten, daß es unter dem Einfluß von A.h. zu einer deutlichen Zunahme von aktivierten  $\gamma\delta$  T-Zellen mit Phänotyp CD2<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD5<sup>schwach</sup>CD8<sup>-</sup> Phänotyp, kam.

Bei funktionellen Untersuchungen der Wirkung von A.h. auf  $\gamma\delta$  T-Lympho-

zyten konnte eine erhöhte IL-2-Produktion festgestellt werden. Diese IL-2-Produktion war allerdings, verglichen mit der von CD4<sup>+</sup> T-Helferzellen, sehr niedrig.

b) Die antivirale Wirkung von *Acanthospermum hispidum* (A.h.)

Im virologischen Teil dieser Arbeit konnte festgestellt werden, daß der Extrakt aus *Acanthospermum hispidum* gegenüber den beiden  $\alpha$ -Herpesviren Pseudorabiesvirus (PRV) und dem Bovinen Herpesvirus 1 (BHV1) und gegenüber den Retroviren Maedi-Visna-Virus (MVV) und Caprines Arthritis- und Enzephalomyelitisvirus (CAEV) stark antiviral wirkt. Andere Viren, wie das Virus der klassischen Schweinepest (KSPV), das Maul- und Klauenseuchevirus (MKSU) und das Vacciniavirus waren gegenüber dem Extrakt völlig unempfindlich.

Die Untersuchung des Mechanismus der antiviralen Wirkung ergab, daß dieser auf einer starken Inhibition der viralen Adsorption beruht. Es wurde dabei gezeigt, daß für diese Adsorptionshemmung hauptsächlich eine Interaktion des Extraktes mit Oberflächenstrukturen des Virus verantwortlich ist.

**Artur Summerfield: Characterization of the immunostimulating and antiviral activity of an extract from *Acanthospermum hispidum***

The objective of this work was to study the biological activities of an extract from the leaves of *Acanthospermum hispidum* (A.h.), a tropical plant which is used in the traditional medicine of Benin. By means of *in vitro* studies two different effects, an immunostimulating and an antiviral activity, of the extract were identified and characterized. The porcine immune system served as a model for studying the immunostimulating compound.

a) Immunostimulating activity of *Acanthospermum hispidum* (A.h.)

The capacity of A.h. to enhance the proliferation of stimulated T lymphocytes was generated. These cells had been stimulated with ConA, superantigen SEB or allogeneic stimulator cells in the mixed leucocyte culture. The virus-specific MHCII-restricted *in vitro* immune response against pseudorabies virus was also enhanced in a costimulating manner.

The immunostimulating activity was further characterized with different *in vitro* tests. The effect of A.h. on T lymphocyte-specific functions like IL-2 production, T cell-dependent immunoglobulin synthesis, generation of MHC-restricted alloantigen-specific cytolytic T lymphocytes, spontaneous cytolytic activity and lymphokine-activated cytolytic activity was investigated. Slightly increased IL-2 production was detected.

Subsequent investigations of separated T lymphocyte subpopulations revealed a synergistic effect between T helper cells and  $\gamma\delta$  T lymphocytes. The target cell of the extract in the porcine immune system was shown to be  $\gamma\delta$  T lymphocytes. A.h. was able to augment strongly the IL-2 dependent proliferation of these cells.

T lymphocytes that had been activated *in vitro* in the presence of A.h. were phenotyped. A strong increase of activated  $\gamma\delta$  T lymphocytes with a CD2<sup>-</sup>CD5<sup>low</sup>+CD8<sup>-</sup> phenotype was observed.

Functional analysis of the influence of A.h. on the functions of  $\gamma\delta$  T lymphocytes showed an enhanced IL-2 production. However this IL-2 production was low compared to that of activated CD4<sup>+</sup> T helper cells.

b) The antiviral activity of *Acanthospermum hispidum* (A.h.)

In the virological part of this work it was demonstrated that A.h. had a strong antiviral activity against the  $\alpha$ -herpes viruses pseudorabies virus (PRV) and bovine herpes virus 1 (BHV1) and also against the retroviruses maedi visna virus (MVV) and caprine arthritis encephalomyelitis virus (CAEV). Other viruses like classical swine fever virus (CSFV), foot and mouth disease virus (FMDV) and vaccinia virus were completely insensitive towards the extract. The investigations of the mechanism of the antiviral activity revealed that there was a strong inhibition of viral attachment caused by A.h. This inhibition of attachment was due to interactions between the extract and viral surface structures.