Infektionskrankheiten

EXIT – Wirtszellaustritt intrazellulärer Pathogene

SANDRA BENNINK, GABRIELE PRADEL

ABTEILUNG FÜR ZELLULÄRE UND ANGEWANDTE INFEKTIONS BIOLOGIE, INSTITUT FÜR BIOLOGIE 2, RWTH AACHEN UNIVERSITY

Living inside of host cells offers major advantages for human pathogens, like nutrient accessibility or the escape from the host's immune system. However, host cell exit is mandatory for further progression and propagation of the pathogen. Three pathways of tightly regulated host cell exit have been described, of which one or more are exploited by intracellular organisms. As this step is an optimal target for drug development, the investigation of exit mechanisms is of great interest.

DOI: 10.1007/s12268-020-1434-y
© Die Autorinnen 2020

■ Viele humanpathogene Krankheitserreger durchlaufen eine Phase, in der sie innerhalb von Wirtszellen persistieren oder sich vermehren. Diese intrazelluläre Lebensweise bietet den Mikroorganismen Schutz vor einem Angriff durch das humane Immunsystem, da sie dadurch einem Erkennen durch Immunzellen oder Antikörper entgehen. Auch sind intrazelluläre Pathogene in der Lage, Metaboliten der Wirtszelle zu nutzen und so z. B. an wichtige Nährstoffe zu gelangen. Ein intrazellulärer Lebensstil ist sowohl für Bakterien als auch für Protozoen beschrieben und wird auch gelegentlich von pathogenen Hefen genutzt. Während manche Erreger nur unter bestimmten Umweltbedingungen in Wirtszellen eindringen, sind andere Erreger auf ein intrazelluläres Leben angewiesen. Zu den fakultativen Erregern gehören Bakterien wie *Listerien* oder *Salmonellen*, während Bakterien, die obligat intrazellulär leben, u. a. *Chlamydien* und *Rickettsien* umfassen. Einzellige Parasiten hingegen durchlaufen in der Regel komplexe Lebenszyklen, bei denen ein Stadium oder mehrere Stadien auf ein Leben in einer Wirtszelle angewiesen sein können. Hierzu gehört etwa der Malariaerreger *Plasmodium falciparum*, der während seines Lebenszyklus sowohl Leberzellen als auch rote Blutkörperchen befällt, aber auch *Leishmanien*, die vorzugsweise in Makrophagen parasitieren [1–5].

Obwohl das Leben in einer Wirtszelle diverse Vorteile bietet, müssen intrazelluläre Pathogene zu bestimmten Zeitpunkten aus

den sie umgebenden Zellen austreten, um für ihre Vermehrung und Verbreitung zu sorgen. Im Laufe der Evolution haben sich drei verschiedene, streng regulierte Strategien des Wirtszellaustritts entwickelt, von denen sich die unterschiedlichen Erreger eine oder mehrere für ihre Verbreitung zunutze machen (Abb. 1): die Einleitung des programmierten Zelltods der Wirtszelle, die aktive lytische Zerstörung der Wirtszelle und der membranabhängige Zellaustritt ohne Wirtszellyse.

Programmierter Zelltod – eine Wirtszelle begeht Selbstmord

Eine Reihe von intrazellulären Krankheitserregern zwingt ihre Wirtszellen zum programmierten Zelltod, um sich von diesen zu

▲ **Abb. 1:** Die drei Wege des Wirtszellaustritts. Programmierter Zelltod: Induktion der nicht-lytischen Apoptose oder der lytischen Nekroptose oder Pyroptose durch das Pathogen. Lyse der Wirtszelle: Zerstörung der Vakuolen- und Plasmamembran durch lytische Proteine des Pathogens. Membranabhängiger Austritt: Modifizierung der Zellmembran ohne Zerstörung der Wirtszelle, wie Aktin-vermittelte Ausbuchtungen, Abkapselungen, Exocytose oder Ejektion. A: Aktinfilament; E: Ejektosom; N: Nukleus; P: Pathogen; V: Vakuole.

befreien [2, 5]. Der Zelltod kann nach drei verschiedenen Mustern erfolgen: der Apoptose, der Nekroptose oder der Pyroptose.

Während der Apoptose zerfällt eine Zelle in membranumhüllte Apoptosekörperchen, die von Makrophagen aufgenommen werden. Dies verhindert eine Entzündungsreaktion, denn die Zellbestandteile werden verdaut. Normalerweise leitet der Organismus selbst die Apoptose ein, etwa, wenn die Zelle geschädigt ist. Intrazellulär lebende Pathogene können die Apoptose jedoch auch zu ihrer Verbreitung nutzen. So wird der Tropenparasit *Leishmania major*, der sich in menschlichen Makrophagen vermehrt, zunächst von polymorphonukleären Neutrophilen phagocytisiert. Hier leitet er gezielt die Apoptose ein, um anschließend in einem zweiten Schritt von Makrophagen als finalen Wirtszellen aufgenommen zu werden. Ähnliche Vorgänge wurden für *Chlamydia pneumoniae* oder den lungenpathogenen Pilz *Cryptococcus neoformans* beobachtet. Diese Mikroben missbrauchen humane Phagocyten als Trojanisches Pferd, um in eine neue Wirtszelle zu gelangen.

Die Pyroptose weist molekulare Ähnlichkeiten zur Apoptose auf, wird jedoch durch ein Inflammasom ausgelöst und geht mit Poren in der Zellmembran einher. Sie führt somit zur Lyse der Zelle und ruft eine Entzündungsreaktion hervor. Tatsächlich müsste eine Entzündungsreaktion schädliche Folgen für den Erreger haben, jedoch könnten ihre nachgeschalteten Effekte – wie das Einwandern von Immunzellen in das Gewebe – die Erregerverbreitung sogar begünstigen. Einer ganzen Reihe von Bakteriengattungen, wie *Legionella*, *Francisella*, *Shigella*, *Salmonella* und *Listeria*, wird die Induktion der Pyroptose zum Austritt aus verschiedenen Immunzellen zugeschrieben.

Die Nekroptose dagegen wird als programmierte Nekrose angesehen und ist klassischerweise von RIP(*receptor interacting protein*)-Kinasen abhängig. Die Nekroptose der Wirtszelle kann u. a. das Gastroenteritis-auslösende Bakterium *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in Makrophagen induzieren. Auch für *Mycobacterium tuberculosis* wurde die Induktion einer Nekroptose in Neutrophilen beschrieben, wodurch der Tuberkuloseerreger durch Makrophagen aufgenommen werden kann.

Die lytische Zerstörung der Wirtszelle

Die aktive Wirtszellzerstörung beschreibt einen Prozess, während dessen Mikroben

mithilfe spezieller Proteine Wirtszellmembranen – wie die Plasmamembran oder die Membran der Vakuole – durchdringen und dadurch die Wirtszelle bzw. Vakuole zerstören. Es sind insbesondere drei Proteintypen bekannt, die die Zerstörung der Wirtszelle vermitteln: Proteasen, Phospholipasen und porenbildende Proteine.

Die Lyse der Wirtszellen ist typisch für Parasiten des Stamms Apicomplexa und wurde am besten für die Blutstadien des Malariaparasiten *Plasmodium falciparum* untersucht, der in einer spezialisierten Vakuole innerhalb der roten Blutkörperchen wächst. Die Merozoiten, die sich während

dieses Prozesses bilden, müssen sich des Erythrocyten entledigen, um sich zu verbreiten. Der Austritt der Merozoiten aus den Erythrocyten folgt einem *inside-out*-Modus, bei dem die Membran der die Parasiten umgebenden Vakuole vor der Erythrocytenmembran aufreißt [3]. Die Signalkaskade, die zur Lyse der Erythrocyten führt, ist recht gut verstanden und umfasst eine Vielzahl von Effektorproteinen, darunter kalziumabhängige Proteinkinasen und Perforine sowie diverse Serin- und Aspartatproteasen, die spezifisch für den Malariaerreger sind. Einige der Effektorproteine befinden sich in spezialisierten sekretorischen Organellen und

Hier steht eine Anzeige.

Springer

▲ **Abb 2:** Der Austritt des Malariaerregers *Plasmodium falciparum* aus den Wirtserythrocysten während der Gametogenese. **A**, Gameten während des Wirtszellaustritts. Der linke Gamet ist aus dem Wirtserythrocysten ausgetreten; der rechte Gamet hat die Wirtszelle perforiert, ist jedoch noch von der Erythrocytenmembran (1) umgeben. Reste der parasitophoren Vakuolenmembran (2) sind erkennbar. **E**: Erythrocyt; **N**: Nukleus; **V**: Verdauungsvakuole. **B**, Nach dem Wirtszellaustritt treten die extrazellulären Gameten (grün, **G**) durch feine Zelloberflächenausstülpungen, den Nanotubes (**N**), miteinander in Kontakt. Die Erythrocyten sind rot angefärbt.

werden beim Wirtszellaustritt auf ein Signal hin abgegeben.

Die Gameten von *Plasmodium falciparum* treten ebenfalls aus dem umhüllenden Erythrocyten über einen *inside-out*-Modus aus (**Abb. 2**). Die Gametogenese wird durch ähnliche Signalstoffe vermittelt, wie sie für die Merozoiten beschrieben wurden. Wie unsere Arbeitsgruppe in elektronenmikroskopischen Studien zeigen konnte, werden beim Austritt aus den roten Blutkörperchen zwei Typen von sekretorischen Organellen entladen. Zunächst gibt ein erster Typus von Vesikeln, die aufgrund ihrer Anfärbbarkeit mit Osmium als osmiophile Körperchen bezeichnet werden, eine Vielzahl von Effektoren in das Lumen der Vakuole ab, wodurch diese sich auflöst [3, 6]. Anschließend sezerniert

ein zweiter Vesikeltypus seinen Inhalt in das Cytoplasma des roten Blutkörperchens, darunter ein Perforin, was die Erythrocytenmembran perforiert und zur darauffolgenden Zerstörung der Membran führt.

Der Austritt aus der Pathogen-enhaltenen Vakuole wurde besonders bei intrazellulären Bakterien untersucht. *Listeria monocytogenes* tritt z. B. aus seiner Vakuole aus, um sich im Cytosol der Wirtszelle zu vermehren. Porenbildende Cytolysine und bakterielle Phospholipasen tragen zur Zerstörung der Vakuolen bei [7]. Darüber hinaus sezernieren Mykobakterien zwei membranlytische Proteine über ein Typ-VII-Sekretionssystem, bevor sie der Vakuole entweichen und den programmierten Zelltod ihrer Wirtszelle induzieren [8]. Ähnliche Mechanismen, bei denen über spezialisierte Sekretionssysteme Effektormoleküle in das Wirtszellcytoplasma sezerniert werden, sind u. a. auch für Salmonellen oder das Lungenpathogen *Legionella pneumophila* beschrieben [9, 10].

Der Pathogen-Shuttle: membranabhängiger Zellaustritt

Einige Pathogene verlassen ihre Wirtszelle mithilfe membranabhängiger Mechanismen, ohne die Wirtszelle dabei zu zerstören. Dabei sind die beobachteten Austrittsprozesse sehr vielfältig, und die Pathogene behelfen sich oft mit einer wirtszelleigenen Maschinerie. So können Listerien und Shigellen eine Wirtszelle verlassen und in eine neue eindringen, indem sie die Aktinpolymerisation in der Wirtszelle induzieren [11]. Die wachsenden Aktinfilamente schieben die Bakterien so lange vor sich her, bis sie umgeben von einer Membranausstülpung aus der Wirtszelle herausragen und von einer benachbarten Zelle aufgenommen werden können. Dieser Mechanismus ermöglicht die Verbreitung von Bakterien, ohne dass diese mit dem extrazellulären Milieu in Kontakt kommen.

Auch der Malaria Parasit verlässt eine seiner Wirtszellen – humane Leberzellen – ohne diese zu zerstören. Dabei induziert der Parasit die Abknospung von Membrankapseln, die mehrere hundert Parasiten enthalten können. Diese Kapseln dienen den Parasiten als Shuttle, um schlussendlich in den Blutstrom zu gelangen, wo sie rote Blutkörperchen befallen [3].

Eine weitere Möglichkeit, die Wirtszelle ohne deren Lyse zu verlassen, bietet die Exocytose. Dabei verschmelzen intrazelluläre Vesikel, die die Krankheitserreger enthalten, mit der Plasmamembran und entlassen

so freie Pathogene in den Extrazellulärraum [1, 2]. Auf diese Weise tritt der Hefepilz *Cryptococcus neoformans* vermutlich aus seinen Wirtszellen, den Makrophagen, aus. Ein Austritt durch Exocytose ist auch für die oben beschriebenen Legionellen bekannt. Ein besonders außergewöhnlicher Mechanismus des Zellaustritts wurde hingegen für Mykobakterien beschrieben. Sie sind in der Lage, eine Aktin-basierte Struktur in der Plasmamembran der Wirtszelle zu induzieren, das Ejektosom, das anschließend die Mykobakterien aus ihren Wirtszellen heraus schießt.

Wirtszellaustritt intrazellulärer Pathogene: eine Achillesferse?

Der Austritt intrazellulärer Pathogene aus ihren Wirtszellen ist entscheidend für die mikrobielle Ausbreitung – und vermutlich die Achillesferse der mikrobiellen Pathogenese. Die Tatsache, dass ein begrenzter Satz von Austrittswegen von einer großen Vielfalt phylogenetisch unterschiedlicher Mikroben geteilt wird, deutet auf eine konvergente Entwicklung dieser Austrittsmechanismen hin. Schlüsselmoleküle, die für den Wirtszellaustritt benötigt werden, sind dabei vielversprechende Ziele für neuartige Interventionsstrategien. Auch wenn die gezielte Blockade des mikrobiellen Wirtszellaustritts möglicherweise nicht vor einer Primärinfektion schützt, gewährleistet solch ein „Wegschluss“ von Mikroben in ihren Wirtszellen einen Ausbreitungsstopp. Dies führt zu einer Abschwächung des Krankheitsverlaufs, während gleichzeitig eine schützende adaptive Immunantwort stimuliert werden kann, was therapeutische und prophylaktische Vorteile bietet.

Um die vielfältigen Mechanismen des Wirtszellaustritts durch humanpathogene Krankheitserreger besser verstehen zu können, hat die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) das Schwerpunktprogramm (SPP) 2225 „Wirtszellaustritt intrazellulärer Pathogene“ eingerichtet, das im kommenden Jahr anlaufen wird. Das SPP 2225 hat zum Ziel, das Spektrum der konvergent entwickelten Wege zu erforschen, die von intrazellulär lebenden humanpathogenen Bakterien, Hefen oder Protozoen für den Wirtszellaustritt genutzt werden. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse werden helfen, das Verständnis der mikrobiellen Pathogenese zu erweitern und neue Möglichkeiten für zukünftige Interventionsmaßnahmen zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten aufzuzeigen. ■

Literatur

- [1] Hybiske K, Stephens RS (2008) Exit strategies of intracellular pathogens. *Nat Rev Microbiol* 6: 99–110
- [2] Friedrich N, Hagedorn M, Soldati-Favre D, Soldati T (2012) Prison break: pathogens' strategies to egress from host cells. *Microbiol Mol Biol Rev* 76:707–720
- [3] Wirth CC, Pradel G (2012) Molecular mechanisms of host cell egress by malaria parasites. *Int J Med Microbiol* 302:172–178
- [4] Traven A, Naderer T (2014) Microbial egress: a hitchhiker's guide to freedom. *PLoS Pathog* 10:e1004201
- [5] Flieger, A, Frischknecht F, Häcker G et al. (2018) Pathways of host cell exit by intracellular pathogens. *Microb Cell* 5:525–544
- [6] Bennink S, Kiesow MJ, Pradel G (2016) The development of malaria parasites in the mosquito midgut. *Cell Microbiol* 18: 905–918
- [7] Seveau S (2014) Multifaceted activity of listeriolysin O, the cholesterol-dependent cytolysin of *Listeria monocytogenes*. *Subcell Biochem* 80:161–195
- [8] Simeone R, Majlessi L, Enninga J et al. (2016) Perspectives on mycobacterial vacuole-to-cytosol translocation: the importance of cytosolic access. *Cell Microbiol* 18:1070–1077
- [9] Knodler LA (2015) *Salmonella enterica*: living a double life in epithelial cells. *Curr Opin Microbiol* 23:23–31
- [10] Hiller M, Lang C, Michel W et al. (2018) Secreted phospholipases of the lung pathogen *Legionella pneumophila*. *Int J Med Microbiol* 308:168–175
- [11] Welch MD, Way M (2013) Arp2/3-mediated actin-based motility: a tail of pathogen abuse. *Cell Host Microbe* 14:242–255

Funding Open Access funding provided by Projekt DEAL.

Open Access Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Gabriele Pradel
Abteilung für Zelluläre und Angewandte
Infektionsbiologie
Institut für Biologie 2
RWTH Aachen University
Worringerweg 1
D-52074 Aachen
pradel@bio2.rwth-aachen.de

AUTORINNEN

Sandra Bennink

2009–2015 Biotechnologiestudium, RWTH Aachen University; dort 2015–2019 Promotion und seit 2019 Postdoktorandin.

Gabriele Pradel

1989–1994 Biologiestudium, Universität Gießen. 1995–1999 Promotion, Universität Frankfurt a. M. 1999–2005 Postdoktorandin, New York University School of Medicine und Weill Medical College of Cornell University, New York, USA. 2005–2011 Emmy-Noether-Gruppenleiterin, Universität Würzburg. 2011–2014 Gruppenleiterin, RWTH Aachen University. Seit 2014 Heisenberg-Universitätsprofessorin, RWTH Aachen University.

Hier steht eine Anzeige.