



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

„Die Rolle von InIA und InIB bei der Invasion von *Listeria monocytogenes* in einem humanen Modell der Blut-Liquor-Schranke“

Autor: Tim Ole Gründler
Institut / Klinik: Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Doktorvater: Prof. Dr. C. Schwerk

Eine Infektion mit dem humanpathogenen Bakterium *Listeria monocytogenes* kann eine Listeriose hervorrufen, die bei schwerwiegendem Verlauf zu einem Befall des zentralen Nervensystems mit Meningitis und Enzephalitis führen kann. Eine besondere Rolle als Eintrittspforte in das ZNS scheint dabei die Blut-Liquor-Schranke (BLS) zu spielen, deren strukturelles Korrelat die Epithelzellen des *Plexus choroideus* darstellen. Als fakultativ intrazellulär lebendes Pathogen kann *L. monocytogenes* Wirtszellen invadieren, ein Prozess, an dem bakterielle Oberflächenproteine der Internalin-Familie, speziell InIA und InIB, beteiligt sind.

Als *in vitro* Modell der BLS kamen Zwei-Kammer-Zellkultursysteme einer Papillomzelllinie vom Epithel des *Plexus choroideus* (HIBCPP) zum Einsatz. Diese Kulturen sind durch eine ausgezeichnete Barriere-Funktion mit hohem transepithelalem elektrischem Widerstand (TEER) und einer niedrigen Durchlässigkeit für Makromoleküle charakterisiert. Eine gezielte Infektion mit Bakterien von apikal (*in vivo*: Liquorseite) oder basolateral (*in vivo*: Blutseite) wurde durch den Einsatz von sog. Normalkulturen bzw. Umkehrkulturen ermöglicht. HIBCPP Zellen wurden mit dem *L. monocytogenes* Wildtyp-Stamm EGD sowie isogenen Mutanten, bei denen InIA, InIB oder beide Mitglieder der Internalin-Familie deletiert sind, infiziert. Mittels Doppelimmunfluoreszenzmikroskopie wurden anschließend an der Zelloberfläche adhärenzte von intrazellulär invadierten Bakterien unterschieden.

Die Invasion von HIBCPP Zellen durch *L. monocytogenes* fand bei allen untersuchten Stämmen signifikant häufiger von basolateral statt, obwohl die Bakterien auch apikal adhärenzten. Es wurden allerdings signifikante Unterschiede in den Invasionsraten der verschiedenen Bakterienstämme beobachtet; der Wildtyp invadierte HIBCPP Zellen deutlich stärker als die Deletionsmutanten. Alle drei Mutanten wiesen eine vergleichbar niedrige Invasionsrate auf. Nach 2 h Infektionszeit war dieser Unterschied besonders ausgeprägt, er bestand aber auch nach 4 h noch. Während der Experimente blieb die Vitalität und Barrierefunktion der HIBCPP erhalten, nur bei apikaler Infektion war nach 4 h ein Abfall des TEER detektierbar, was den Makromolekülfluss und die Zellvitalität jedoch nicht beeinflusste.

Wie schon in Arbeiten mit *Streptococcus suis* und *Neisseria meningitidis* in BLS-Modellen gezeigt, konnte auch für *L. monocytogenes* ein polarer Invasionsweg von der *in vivo* relevanten basolateralen Zellseite nachgewiesen werden. InIA und InIB spielten beim Eintritt in das Plexusepithel eine gleichermaßen wichtige, interdependente Rolle; Ähnliches war bereits für die listerielle Überwindung der fetoplazentalen Barriere beschrieben. Für die Invasion des Darmepithels wurde dagegen lediglich eine Abhängigkeit von InIA gezeigt.

In Anbetracht der obigen Ergebnisse, die unzweifelhaft die ausgeprägte Invasion eines humanen Modells der BLS durch *L. monocytogenes in vitro* belegen, scheint der Fokus auf die BLS bei der Pathogenese der Neurolisteriose einen hochinteressanten Ansatz für zukünftige *in vivo* Studien darzustellen.