



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

**Invasionsmechanismen von *Listeria monocytogenes* an einem  
Modell der Blut-Liquor-Schranke mit HIBCPP-Zellen**

Autor: Julian Kaltschmidt  
Institut / Klinik: Klinik für Kinder- und Jugendmedizin  
Doktorvater: Prof. Dr. C. Schwerk

Das grampositive Bakterium *Listeria monocytogenes* ist ein gefährlicher humanpathogener Erreger, der die Fähigkeit besitzt, aktiv Wirtszellen zu invadieren und sich innerhalb dieser Zellen auszubreiten. Diese Eigenschaft trägt dazu bei, dass *Listeria monocytogenes* Barrieren innerhalb des menschlichen Körpers überwinden kann. Besonders gefährlich ist das Eindringen des Erregers in das zentrale Nervensystem über die Blut-Hirn-Schranke und/oder die Blut-Liquor-Schranke. Trotz frühzeitiger Diagnose kann eine Infektion der Hirnhäute (Meningitis) zu schweren Folgeschäden und letztendlich zum Tod führen. An der Internalisation von *Listeria monocytogenes* in humane Plexusepithelzellen sind die bakteriellen Virulenzfaktoren Internalin A und Internalin B beteiligt. Internalin A bindet an E-Cadherin auf der Oberfläche von Wirtszellen und Internalin B an die Rezeptor-Tyrosinkinase Met. Deletionsmutanten von *Listeria monocytogenes*, bei denen das Internalin A oder/und das Internalin B Gen ausgeschaltet wurde, zeigen eine signifikante Reduktion der Invasion in HIBCPP-Zellen (Papillomzelllinie aus humanen Plexusepithelzellen; *in vitro* Modell für die Blut-Liquor-Schranke). Darüber hinaus spielt das Guanosintriphosphat hydrolysierende Enzym Dynamamin bei endozytotischen Prozessen im Rahmen der Invasion von *Listeria monocytogenes* in Wirtszellen eine bedeutende Rolle. Ziel dieser Arbeit war es, die Invasionsmechanismen von *Listeria monocytogenes* anhand des auf HIBCPP-basierenden *in vitro* Modells der Blut-Liquor-Schranke zu analysieren. Der Fokus lag dabei auf den Virulenzfaktoren Internalin A und Internalin B. Im Einzelnen sollte die Bedeutung dieser Internaline für die Invasion anhand der Deletionsmutanten verifiziert werden. Weiter sollte die subzelluläre Lokalisation von E-Cadherin durch Immunfluoreszenz-Analysen bestätigt werden. Durch den Einsatz spezifischer Antikörper (gegen Ecad) und Dynamamin-Inhibitoren (Dynasore, Dyngo-4a) sollte der Prozess weiter analysiert werden. Bei allen Experimenten wurde die prinzipielle Undurchlässigkeit der HIBCPP-Zellschicht durch Messung des transepithelialen Widerstands und des Inulin-Flusses sichergestellt. Die Experimente mit den Deletionsmodellen bestätigten den Befund, dass sowohl Internalin A als auch Internalin B für eine effiziente Invasion benötigt werden. Immunfluoreszenz-Analysen mit dem Antikörper gegen E-Cadherin ergaben, dass dieser Rezeptor in HIBCPP-Zellen ausschließlich basolateral lokalisiert ist. Eine Vorbehandlung der HIBCPP-Zellen mit E-Cadherin-Antikörpern führte zu einer Reduktion der Invasion von *Listeria monocytogenes*. Dieser Befund unterstützt die Bedeutung der Internalin A/E-Cadherin-Interaktion für die Invasion von *Listeria monocytogenes* in Epithelzellen des Plexus. Der neuartige Dynamamin-Inhibitor Dyngo-4a wirkte sich sowohl hemmend auf das Wachstum von *Listeria monocytogenes*, als auch auf die Invasionsraten von *Listeria monocytogenes* in HIBCPP-Zellen, aus. Er eignete sich daher nicht zur Untersuchung von Dynamamin auf den Invasionsprozess. Bei Zugabe des Dynamamin-Inhibitors Dynasore kam es hingegen ausschließlich zu einer signifikanten Hemmung der Invasion von *Listeria monocytogenes* in HIBCPP-Zellen. Das Ergebnis belegt die Bedeutung der Dynamamin-vermittelten Endozytose für die Invasion des Bakteriums in die Epithelzellen des *Plexus choroideus*. Die in dieser Arbeit nachgewiesenen Daten belegen die Relevanz der Blut-Liquor-Schranke als Eintrittspforte für *Listeria monocytogenes in vitro* und geben einen Einblick in die Invasionsmechanismen. Weitere Studien sind notwendig, um die Invasionsmechanismen *in vivo* zu bestätigen und so präventive und therapeutische Ansätze zu entwickeln.