

Julia Helena Kantorek
Dr. med.

Inhibition der antiviralen Immunantwort durch *Pseudomonas aeruginosa* in humanen Bronchialepithelzellen und Relevanz für das Krankheitsbild der Cystischen Fibrose

Fach/Einrichtung: Medizinische Mikrobiologie / Zentrum für Infektiologie der Universität Heidelberg
Doktorvater: Prof. Dr. med. Alexander H. Dalpke

Das im Rahmen der respiratorischen Manifestation der Cystischen Fibrose von Mukostase und chronischer Inflammation geprägte pulmonale Mikromilieu begünstigt die Infektion mit dem gramnegativen Stäbchenbakterium *Pseudomonas aeruginosa*. Evolutionäre adaptive Vorgänge inklusive des Erwerbs antibiotischer Resistenzmechanismen erschweren die Eradikation dieses Pathogens und ermöglichen die Transition von einer intermittierenden zu einer chronischen *Pseudomonas aeruginosa* Infektion. Epidemiologische Untersuchungen zeigen, dass mehr als 60 % der Patient*innen mit Cystischer Fibrose ab dem 25. Lebensjahr mit *Pseudomonas aeruginosa* infiziert sind. Kennzeichnend für das Krankheitsbild der Cystischen Fibrose ist ein – unter anderem durch *Pseudomonas aeruginosa* begünstigter – kontinuierlicher pulmonaler Funktionsverlust, welcher von intermittierenden Episoden, in denen eine akute klinische Verschlechterung eintritt, unterbrochen wird. Diese sogenannten akuten pulmonalen Exazerbationen sind in weiteren chronischen Lungenerkrankung wie der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung oder Asthma bronchiale mit respiratorischen Virusinfektionen assoziiert. Der Nachweis respiratorischer Viren wird auch im Rahmen pulmonaler Exazerbationen von Patient*innen mit Cystischer Fibrose erbracht. Aus diesem Grund sollte im Rahmen dieser Arbeit eine potentielle Co-Pathogenese und Interaktion zwischen *Pseudomonas aeruginosa* (konditioniertes Medium) und respiratorischen Viren (humane Rhinoviren der Minor-Gruppe ‚RV1B‘; Respiratorisches Synzytial-Virus ‚RSV‘) untersucht werden.

Genexpressionsanalysen (qRT-PCR) zeigten, dass *Pseudomonas aeruginosa* fähig ist, die antivirale Immunantwort – in Form einer reprimierten Induktion der beiden Interferon-stimulierten Gene MX1 und OAS1 – in einer humanen immortalisierten Bronchialepithelzelllinie (BEAS-2B Zellen) zu inhibieren; dadurch wird die virale Replikation und Verbreitung erleichtert.

Molekularbiologische Verfahren (ELISA, Western Blot) dienen der Identifizierung des zugrundeliegenden Mechanismus, wobei der Fokus auf Typ-III-Interferone, der vorrangig von respiratorischen Epithelzellen exprimierten Interferonklasse, gelegt wurde: Es stellte sich heraus, dass *Pseudomonas aeruginosa* Typ-III-Interferone degradieren kann, woraufhin die nachgeschaltete Signalkaskade und damit die Etablierung eines antiviralen Zustands inhibiert werden.

Weiterhin demonstrierten Untersuchungen klinischer *Pseudomonas aeruginosa* Isolate aus intermittierenden respektive chronischen Infektionsstadien, dass jene Isolate eines intermittierenden, jedoch nicht eines chronischen Infektionsstadiums zur Degradation von Typ-III-Interferone und infolgedessen zur Repression der Induktion antiviraler Gene fähig sind. Diese Fähigkeit beruht auf der Expression von LasR, einem im Rahmen des bakteriellen Quorum Sensings bedeutenden Transkriptionsfaktor, der im Verlauf einer Infektion häufig von einer Loss-of-Function-Mutation betroffen ist: Die Konditionierung mit LasR-deletierten *Pseudomonas aeruginosa* Isolaten führt entsprechend zu einer Restitution der antiviralen

Immunantwort in BEAS-2B Zellen. In nachfolgenden Experimenten konnte die LasR-regulierte Protease AprA als maßgeblich für die Inhibition der antiviralen Immunantwort verantwortliche Protease identifiziert werden.

Zur Erörterung der Relevanz der vorliegenden Befunde im klinischen Rahmen erfolgte eine Analyse der Prävalenz humaner Rhinoviren der Minor-Gruppe (RV1B) in Sputumproben von Patient*innen mit Cystischer Fibrose: Intermittierend mit *Pseudomonas aeruginosa* infizierte Patient*innen weisen nicht nur eine erhöhte RV1B-Prävalenz, sondern auch eine erhöhte Viruslast in Form erniedrigter Ct-Werte in der qRT-PCR auf im Vergleich zu chronisch mit *Pseudomonas aeruginosa* infizierten Patient*innen respektive Patient*innen ohne evidente *Pseudomonas aeruginosa* Infektion.

Demnach konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass *Pseudomonas aeruginosa* mittels der von ihm sezernierten LasR-regulierten Protease AprA zur Inhibition der antiviralen Immunantwort bei einer simultanen Co-Infektion mit respiratorischen Viren fähig ist. Zudem konnte ein signifikanter Einfluss des *Pseudomonas aeruginosa* Infektionsstadiums aufgezeigt werden, welcher sich in einer erhöhten Suszeptibilität für respiratorische Virusinfektionen bei intermittierend mit *Pseudomonas aeruginosa* infizierten Patient*innen mit Cystischer Fibrose widerspiegelt.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen ergibt sich nicht nur ein potentielles Interesse der pharmakotherapeutischen Forschung hinsichtlich der Entwicklung medikamentöser Inhibitoren; zusätzlich sind die aufgeführten Befunde auf weitere Erkrankungen, bei denen Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* beschrieben werden und Co-Infektionen mit respiratorischen Viren auftreten können, übertragbar, entsprechend neu einzuordnen und zu bewerten.