UNIKATE

2020 | Berichte aus Forschung und Lehre

UNIVERSITÄT DUISBURG ESSEN

Offen im Denken

54 Medizin

Infektionskrankheiten – ein globales Problem

Torben Knuschke	**Influenzavirus – gefährliche Wandlungsfähigkeit**	8
Kathrin Sutter	**Die Einmischer: Interferone**	18
Wiebke Hansen	**Malaria – quo vadis?**	28
Tina Senff, Jörg Timm	**Erfolg durch körpereigene „Krieger*innen“**	38
Alexandra Adamczyk, Astrid M. Westendorf	**Gute Mikroben, schlechte Mikroben**	48
Mirko Trilling	**Im Rennen der Roten Königin**	62
Oliver Witzke, Benjamin Wilde, Adalbert Krawczyk	**Moderne Infektiologie: Eindringlinge unschädlich machen**	70
Daniela Catrini, Astrid M. Westendorf	**Ein Gespräch über das Graduiertenkolleg 1949 „Immunantwort in Infektionskrankheiten“**	82

ISSN 1869-3881

INHALT

EDITORIAL 6

Torben Knuschke
Influenzavirus – gefährliche Wandlungsfähigkeit

8 **Hürden bei der Impfstoffentwicklung und die Rolle des angeborenen Immunsystems als alternativer Ansatzpunkt für neue Therapien**

Influenzavirus-Infektionen sind weltweit verbreitet und stellen eine immer wiederkehrende gesundheitliche Gefahr dar. In Deutschland treten sie über das Jahr wellenförmig verteilt, regelmäßig in den Wintermonaten, meist nach dem Jahreswechsel, auf. Innerhalb dieser jährlichen Grippewellen werden laut Schätzungen des Robert-Koch-Institutes fünf bis 20 Prozent der Bevölkerung infiziert. Weltweit gibt es laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) jährlich schätzungsweise eine Milliarde Influenza-Infektionen. Dieser Beitrag behandelt Fragen der Impfstoffentwicklung und alternative Therapiemöglichkeiten.

Kathrin Sutter
Die Einmischer: Interferone

18 **Wie sie die Immunantwort beeinflussen, um Viren effektiv zu bekämpfen**

Bislang sind die genauen molekularen Mechanismen fast aller medizinisch wichtigen Anwendungen der Interferone und besonders der verschiedenen Subtypen kaum verstanden. Ein größerer Einblick, wie genau Interferone Virusinfektionen beeinflussen, kann durchaus zur Entwicklung von potenten IFN-basierten Immuntherapien führen, die spezifischer und effektiver in ihrer biologischen Wirkung sind als die bisher zugelassenen IFN-Therapien.

Wiebke Hansen
Malaria – quo vadis?

28 **Neue Erkenntnisse zur Therapie, Impfstoffentwicklung und Reaktion unseres Immunsystems**

Malaria gehört zu den weltweit bedeutendsten Infektionserkrankungen und tritt in etwa 100 Ländern der tropischen und subtropischen Gebiete auf. Schätzungsweise 40 Prozent der Weltbevölkerung lebt in Malaria-endemischen Gebieten, zu denen Länder in Afrika, Asien und Südamerika gehören. Insbesondere Menschen in Afrika sind mit 90 Prozent der Fälle am meisten betroffen. Weltweit werden jährlich mehr als 200 Millionen Menschen infiziert, und etwa 450.000 versterben in Folge der Infektion. Besonders Kinder unter fünf Jahren und schwangere Frauen haben ein erhöhtes Risiko, eine schwere Malaria zu entwickeln.

54

Tina Senff, Jörg Timm
Erfolg durch körpereigene „Krieger*innen“

38 **Natürliche Killerzellen im Kampf gegen eine Hepatitis-C-Virus-Infektion**

Die in diesem Beitrag beschriebene immunologische Grundlagenforschung möchte dazu beitragen, ein besseres Verständnis der HCV-Infektion zu erlangen und die komplexen Mechanismen aufklären, die bei einigen Menschen zu einer spontanen Ausheilung einer HCV-Infektion führen beziehungsweise Individuen vor einer Infektion schützen. Ein besseres Verständnis der Rolle des angeborenen und erworbenen Immunsystems für den HCV-Infektionsverlauf könnte für die Entwicklung einer prophylaktischen Impfung helfen.

Alexandra Adamczyk, Astrid M. Westendorf
Gute Mikroben, schlechte Mikroben

48 **Ist die Darm-Mikrobiota Teil des Problems oder die Lösung bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen?**

Eine zunehmende Zahl an Forschungsarbeiten im Laufe der letzten zehn Jahre gibt deutliche Hinweise, dass die Zusammensetzung und auch die Funktion der intestinalen Mikrobiota, früher als Darmflora bezeichnet, einen fundamentalen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen haben.

Mirko Trilling
Im Rennen der Roten Königin

62 **Evolutionäres Wettrüsten zwischen Herpesviren und ihren Wirten**

“It takes all the running you can do, to keep in the same place.
If you want to get somewhere else, you must run at least twice as fast as that!”
Die Rote Königin zu Alice in Lewis Carrolls Through the Looking-Glass, and What Alice Found There

Oliver Witzke, Benjamin Wilde, Adalbert Krawczyk
Moderne Infektiologie: Eindringlinge unschädlich machen

70 **Universitäre Infektiologie als fächerübergreifendes Konzeption der stationären Patient*innenversorgung**

Der Schwerpunkt der Klinik für Infektiologie liegt auf dem interdisziplinären Management von Infektionskrankheiten im Rahmen der Immunsuppression. Die Spezialist*innen für Infektionskrankheiten arbeiten eng mit Mikrobiolog*innen, Virolog*innen, Nephrolog*innen, Hepatolog*innen und Immunolog*innen zusammen, um die optimale Prävention, Diagnose und Behandlung zum Wohle der Patient*innen zu gewährleisten. Diese Bündelung von Kompetenzen ist ein echter Vorteil, da die an der Diagnose und Behandlung von Infektionskrankheiten beteiligten Ärzt*innen und Wissenschaftler*innen interdisziplinär zusammenarbeiten.

Daniela Catrini, Astrid M.Westendorf
Graduiertenkollegs sind ein großes Plus

82 **Ein Gespräch mit der Sprecherin des Graduiertenkollegs „Immunantwort in Infektionskrankheiten“ (GRK 1949), Prof. Dr. Astrid Westendorf und der Koordinatorin des Kollegs, Daniela Catrini M.A.**

ABONNEMENT 88

HINWEISE, IMPRESSUM 89

EDITORIAL

Verehrte Leser*innen,

Infektionskrankheiten werden durch Bakterien, Viren, Pilze oder Parasiten verursacht und gehören weltweit zu den zehn häufigsten Todesursachen. Dabei entfallen die meisten Todesfälle auf Lungenentzündungen, Durchfallerkrankungen, AIDS, Tuberkulose und Malaria.

Insbesondere Entwicklungsländer sind stark betroffen, aber auch in der westlichen Welt stehen die Gesundheitssysteme diesbezüglich vor erheblichen Herausforderungen. Die Behandlung von Infektionskrankheiten wird durch den Anstieg an Erregern, die gegen Arzneimittel resistent sind, zunehmend erschwert. So stehen trotz intensiver Forschung auf diesem Gebiet nur für wenige Erreger effektive Therapien zur Verfügung. Hygiene und Impfungen gehören bisher zu den wirksamsten präventiven Maßnahmen gegen Infektionskrankheiten. Für die Entwicklung neuer Therapieansätze sind detaillierte Kenntnisse der Pathogenese von Infektionserkrankungen essentiell. Daher müssen sowohl Grundlagenforscher*innen und klinische Wissenschaftler*innen als auch Kliniker*innen auf dem Gebiet der Infektiologie und der Immunologie besser ausgebildet werden. Dieses Ziel verfolgt das Graduiertenkolleg 1949, das wir Ihnen in dieser UNIKATE-Ausgabe näher vorstellen möchten.

Die Immunantwort hat einen entscheidenden Einfluss auf den Verlauf einer Infektion. Das Immunsystem gilt als eines der komplexesten Systeme im menschlichen Körper und besteht aus verschiedenen Zellen, Antikörpern, Komplementfaktoren und zahlreichen Botenstoffen, deren Zusammenspiel wichtig ist. Traditionell wird bei der Immunreaktion des Wirts gegen Pathogene die angeborene von der erworbenen Immunantwort unterschieden. Die Stärke der angeborenen Abwehr besteht darin, dass sie sehr schnell, innerhalb weniger Stunden, direkt am Ort der Infektion das Pathogen angreift. Dabei ist die angeborene Immunantwort nicht auf bestimmte Pathogene spezialisiert und benötigt daher auch keine lange Anlaufphase. Durch diese breite Wirksamkeit ist sie aber nur bis zu einem gewissen Maße in der Lage, das Eindringen und Ausbreiten von Erregern zu verhindern. Wenn es der ersten Verteidigung des Körpers durch die angeborene Immunantwort nicht gelingt, die Erreger zu vernichten, kommt es nach einem Zeitraum von vier bis sieben Tagen zur erworbenen Immunantwort. Die erworbene Abwehr braucht also länger, besitzt dafür aber auch eine größere Spezifität gegen das Pathogen und ist in der Lage, ein Gedächtnis auszubilden. Bei einem erneuten Kontakt mit einem bereits bekannten Pathogen

Astrid M. Westendorf. Foto: Vladimir Unkovic

kann die Abwehrreaktion dann schneller und effizienter erfolgen.

Diese historische Einteilung der Immunantworten findet sich in der aktuellen Forschung wieder, in der typischerweise der Fokus entweder auf der angeborenen oder der erworbenen Immunantwort liegt, obwohl sich beide Arme des Immunsystems gegenseitig stark beeinflussen. Daher kann es für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze oder Impfstoffe im Kampf gegen Infektionskrankheiten nur von Vorteil sein, die Interaktion beider Komponenten zu untersuchen. Dieser Thematik widmet sich das durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderte Graduiertenkolleg (GRK) 1949 „Immunantwort in Infektionskrankheiten – Regulation zwischen angeborener und erworbener Immunität“, ein Verbundprojekt der Universität Duisburg-Essen und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Im Rahmen dieses GRKs werden ausgezeichnete junge Nachwuchswissenschaftler*innen und Ärzt*innen auf dem Gebiet der Infektionsimmunologie und Impfstoffentwicklung ausgebildet und forschen an der gemeinsamen wissenschaftlichen Fragestellung: Wie wird während einer Infektion die erworbene Immunantwort durch die angeborene Immunantwort moduliert, und wie beeinflusst die erworbene Immunantwort die angeborene Immunität? Das GRK koordiniert ein dreijähriges Programm zur Durchführung einer Promotion für Naturwissenschaftler*innen und forschende Ärzt*innen sowie ein einjähriges strukturiertes Ausbildungsprogramm für Medizinstudierende. Die multidisziplinäre Ausbildung von wissenschaftlichem Nachwuchs findet an verschiedenen Instituten der Universität Duisburg-Essen und der Heinrich-Heine-Universität statt und soll den langfristigen Fortschritt auf diesem wichtigen Forschungsgebiet sicherstellen.

Die Beiträge dieses Heftes beschreiben Forschungsprojekte, die im Rahmen des GRK 1949 bearbeitet werden. Bei der Lektüre werden Sie zum einen feststellen, wie vielfältig die Erreger sind, aber auch, dass es durchaus Gemeinsamkeiten im Kampf gegen verschiedene Infektionskrankheiten gibt.

Ich wünsche Ihnen eine anregende Lektüre!

Astrid M. Westendorf
Sprecherin GRK 1949
Lehrstuhl für Infektionsimmunologie

Torben Knuschke. Foto: Vladimir Unkovic

Influenzavirus-Infektionen sind weltweit verbreitet und stellen eine immer wiederkehrende gesundheitliche Gefahr dar. In Deutschland treten sie über das Jahr wellenförmig verteilt, regelmäßig in den Wintermonaten, meist nach dem Jahreswechsel, auf. Innerhalb dieser jährlichen Grippewellen werden laut Schätzungen des Robert-Koch-Institutes fünf bis 20 Prozent der Bevölkerung infiziert. Weltweit gibt es laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) jährlich schätzungsweise eine Milliarde Influenza-Infektionen. Dieser Beitrag behandelt Fragen der Impfstoffentwicklung und alternative Therapiemöglichkeiten.

Influenzavirus – gefährliche Wandlungsfähigkeit

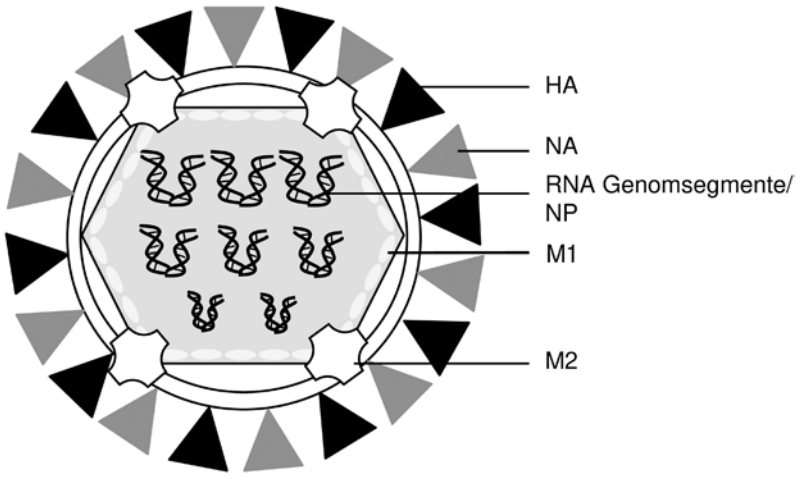
Hürden bei der Impfstoffentwicklung und die Rolle des angeborenen Immunsystems als alternativer Ansatzpunkt für neue Therapien

Von Torben Knuschke

Das Influenzavirus gehört zu der Familie der Orthomyxoviridae und wurde erstmals 1933 von den Wissenschaftlern Smith, Andrews und Laidlaw in London beschrieben. Man unterscheidet die Virustypen A, B und C, wobei der Typ A weiter in Subtypen unterteilt wird, die nach den Oberflächenproteinen Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA) benannt werden (Abb. 1). Von diesen spitzenförmigen Oberflächenproteinen sind 18 verschiedene HA- und neun NA-Varianten bekannt. Bei den Influenza-A-Typen ergibt sich dann daraus zum Beispiel der Virustyp H1N1 oder H3N4. Typ B wird dagegen in die zwei bekannten Linien Yamagata oder Victoria untergliedert. Typ C spielt für den Menschen eine eher untergeordnete Rolle, da Infektionen mit diesem Virustyp sehr milde und unproblematische Krankheitsverläufe auslösen. Während Influenza-A-Viren außer im Menschen auch in anderen Säugetieren sowie Vögeln vorkommen, sind die Typen B und C hauptsächlich für den Menschen pathogen.

So funktioniert die Grippe

Die Erbinformation (Genom) des membranumhüllten Virus besteht aus acht einzelnen und voneinander unabhängigen RNA-Gensegmenten. Das Ziel des Virus sind die sogenannten Epithelzellen. Diese Zellen bedecken die Oberfläche der Atemwege. Die Influenzaviren binden sich mithilfe des HA an spezielle Sialinsäurerezeptoren der Epithelzellen und dringen in diese ein, um ihr Genom freizusetzen. Das virale RNA-Genom übernimmt dann in



(1) Vereinfachte Darstellung eines Influenza-A-Viruspartikels. Das segmentierte RNA-Genom besteht aus acht einzelnen, voneinander unabhängigen Segmenten, die bei Co-Infektion einer Zelle mit zwei unterschiedlichen Virusvarianten untereinander ausgetauscht werden können. Auf der Lipidhülle sitzen die Subtyp-bestimmenden Hämagglutinin (HA)- und Neuraminidase (NA)-Proteine. Die Matrixproteine 1 und 2 (M1, M2) sowie das Genom-assoziierte Nukleoprotein (NP) sind intern lokalisiert.
Quelle: eigene Darstellung

der Zelle die Steuerung der Stoffwechselprozesse. Dadurch kommt es zu einer massenhaften Produktion von Influenzaviren. Für die anschließende Freisetzung der neugebildeten Viruspartikel ist NA nötig. Etwa acht Stunden nach der Infektion der Zelle platzen die Epithelzellen auf und die Viren werden freigesetzt und können weitere Epithelzellen infizieren. Die ursprüngliche Zelle geht dabei zugrunde. So sterben innerhalb weniger Stunden sehr viele Zellen ab, was zum letztendlichen Krankheitsbild beiträgt. Durch kleinste Tröpfchen beim Husten oder Niesen verbreitet sich die Infektion von Mensch zu Mensch. Besondere Gefährdung geht daher von größeren Menschenansammlungen aus, zum Beispiel am Arbeitsplatz, in der Schule oder in öffentlichen Verkehrsmitteln. Das klinische Bild einer Influenzavirus-Infektion wird gemeinhin auch als Grippe bezeichnet. Eine Grippe beginnt mit der Infektion der oberen Atemwege und verursacht mitunter plötzliches Fieber, Husten und Muskel- oder Kopfschmerzen bei den Betroffenen. Hierbei können in jedem Lebensalter schwere Verlaufsformen und Komplikationen auftreten, diese betreffen jedoch vorwiegend ältere (>60 Jahre) sowie jüngere (<3 Jahre) Patient*innen und solche mit chronischen Grunderkrankungen. Bei schweren Verlaufsformen kann sich die Infektion auch auf die unteren Atemwege ausbreiten und dort zu einer viralen Lungenentzündung (Pneumonie) führen. Gefährliche Komplikationen ergeben sich zudem aus bakteriellen Sekundärinfektionen, die das angegriffene Lungengewebe im Laufe der Influenza-Infektion besiedeln können.

Grippe, historisch betrachtet

Influenzavirus-Infektionen sind weltweit verbreitet und stellen eine immer wiederkehrende gesundheitliche Gefahr dar. In Deutschland treten sie über das Jahr wellenförmig verteilt, regelmäßig in den Wintermonaten, meist nach dem Jahreswechsel, auf. Innerhalb dieser jährlichen Grippewellen werden schätzungsweise fünf bis 20 Prozent der Bevölkerung infiziert[1] (Robert Koch-Institut, kurz: RKI). Weltweit gibt es laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) jährlich schätzungsweise eine Milliarde Influenza-Infektionen. Die Intensität und das Ausmaß einer Grippewelle kann von Jahr zu Jahr erheblich schwanken. Mit dafür verantwortlich ist die starke Mutationsfähigkeit des Virus. Saisonal verändern Influenzaviren ihre antigenen Eigenschaften durch punktuelle Mutationen ihres Genoms (Antigendrift) oder Neukombinationen ganzer Genomsegmente durch den Austausch zwischen verschiedenen Influenzavirusvarianten (Antigenshift). Letzteres kann zum Beispiel bei Co-Infektionen der gleichen Wirtszelle mit zwei unterschiedlichen Influenza-A-Viren auftreten. Ein Antigenshift kann zu schweren Pandemien führen. Der schwerste bisher bekannte Fall einer Influenza-Pandemie ist bekannt als die „Spanische Grippe“ aus dem Jahr 1918, die bis 1920 mindestens 40 Millionen Menschen weltweit das Leben kostete. Alleine im damaligen Deutschen Reich sollen 426.000 Menschen der „Spanischen Grippe“ zum Opfer gefallen sein. Dies entspricht ungefähr der Einwohnerzahl von Mainz und Oberhausen zusammen. Vermutet wird, dass sich diese besonders tödliche Virusvariante durch eine Kreuzung eines Vogelgrippevirus mit einer menschlichen Virusvariante entwickelte. Auch heute noch sind Kreuzungen von Vogel- oder Schweinegrippeviren mit humanen Varianten besonders in Asien zu beobachten, wo Mensch und Tier häufig in engem Kontakt leben. Gerade Vogelgrippeviren infizieren übermäßig Epithelzellen der unteren Atemwege, so dass eine besondere Gefahr für die Entstehung von schweren Pneumonien von ihnen ausgeht.

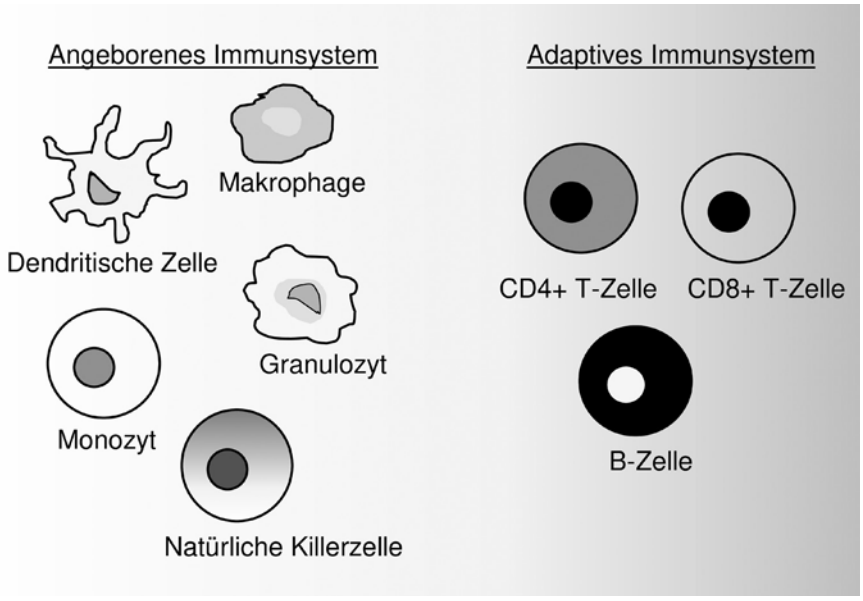
Obwohl der Medizin heute verbesserte Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung stehen und sich auch die Lebensbedingungen der Menschen im Vergleich zu 1918 verändert haben, ergeben sich heute

andere große Herausforderungen, um schwere Influenza-Ausbrüche zu verhindern. Hierzu zählen zum Beispiel die zunehmende Mobilität der Gesellschaft sowie die Globalisierung. Diese Umstände ermöglichen es dem Virus, sich schneller über die gesamte Erde zu verbreiten. Nach der „Spanischen Grippe" traten auch in den Grippesaisons 1957/58 und 1968/69 Influenza-Pandemien auf, wenn auch mit erheblich geringeren Todeszahlen (jeweils ca. 1 Million weltweit). Die jüngste Influenza-Pandemie lässt sich auf die Saison 2009/10 zurückführen, bei der durch die Vermischung von Vogel-, Schweine- und Menschenvirussegmenten eine sehr infektiöse Virusvariante entstand und unter dem Begriff „Schweinegrippe" bekannt wurde. Besonders auffällig waren hier die vergleichsweise hohen Todeszahlen verursacht durch virale Pneumonien unter jungen Erkrankten (unter 60 Jahren). Da es sich um eine Neukombination aus drei verschiedenen Influenzaviren handelte, existierte in der Bevölkerung keine oder nur eine beschränkte Immunität. Daher ist grundsätzlich eine jährliche Grippeimpfung empfohlen, um vor einer Infektion und ihrer weiteren Verbreitung zu schützen. Die Ständige Impfkommission (STIKO) empfiehlt besonders älteren Menschen (>60), Menschen mit Grunderkrankungen sowie Personen mit erhöhter Gefährdung (beispielsweise medizinisches Personal) eine jährliche Impfung im Herbst.

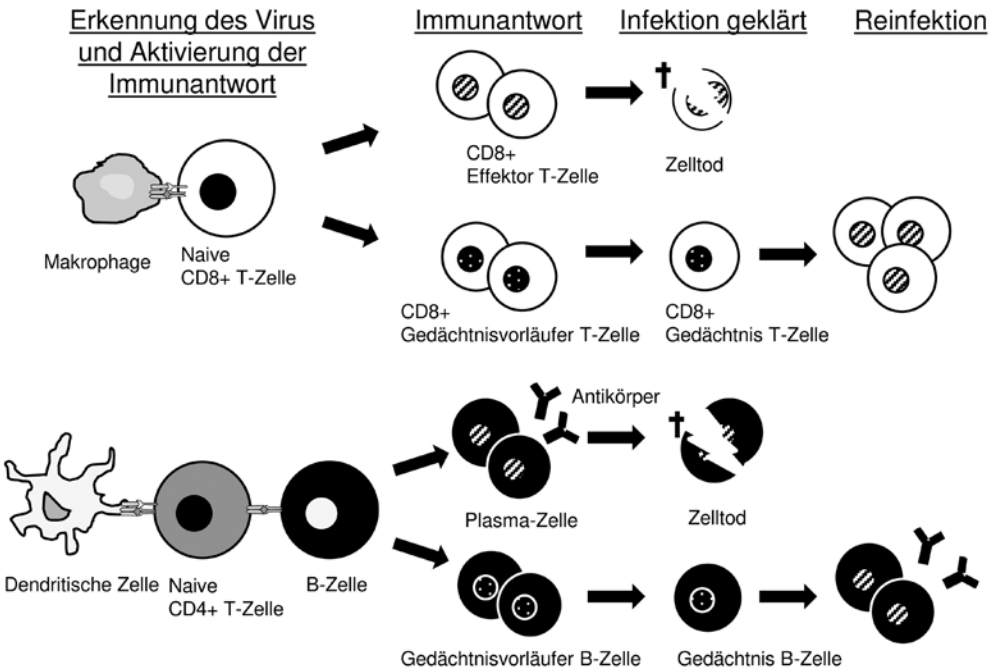
Grippeimpfung

Das Ziel einer Impfung ist es, ein immunologisches Gedächtnis aufzubauen. Wird ein Mensch mit einem Virus infiziert, so wird dieses zunächst von Zellen der angeborenen Immunantwort erkannt. Diese erste Barriere setzt sich aus weißen Blutkörperchen zusammen, den sogenannten Leukozyten (Abb. 2). Zu den angeborenen Immunzellen gehören unter anderem Granulozyten, Monozyten, Makrophagen sowie dendritische Zellen mit einem breiten Spektrum unterschiedlicher Funktionalitäten. Diese Zellen aktivieren wiederum die Zellen des adaptiven Immunsystems. Hierzu zählen die sogenannten B- und T-Lymphozyten. Diese Zellen können mit spezifischen Rezeptoren die Viren anhand von charakteristischen Strukturen, den Antigenen, erkennen. So werden schließlich Virus-infizierte Zellen erkannt und durch T-Zellen eliminiert oder zielgerichtete Antikörper von B-Zellen produziert, die an bestimmte Bereiche der viralen Partikel binden können und so das Eindringen in die Zielzelle verhindern. Bei Influenza verhindern Antikörper gegen Bereiche des HA-Proteins die Infektion weiterer Zellen. Ist das Virus vollständig aus dem Körper eliminiert, bilden sich die aktivierten Immunzellen zurück und bleiben dem Immunsystem als Gedächtniszellen für den Fall einer erneuten Infektion mit dem gleichen Virus erhalten. Bei einem eventuellen Zweitkontakt wird eine Neuinfektion im Idealfall komplett unterbunden beziehungsweise eine schnelle Kontrolle der Infektion erreicht (Abb. 3). Bei einer Impfung macht man sich diese Mechanismen zunutze. Abgetötete oder abgeschwächte Viren werden häufig in Kombination eines immunstimulierenden Adjuvans verabreicht, um eine Infektion nachzuahmen, ohne dass jedoch der Organismus wirklich krank wird. Trotzdem bildet der Körper eine Gedächtnisantwort gegen das Virus und ist vor einer tatsächlichen Infektion geschützt. Erzeugt wird mit dieser Methode hauptsächlich ein auf Antikörpern basierender Schutz.

Ein herkömmlicher Influenza-Impfstoff enthält normalerweise alle gerade zirkulierenden Virusvarianten, muss also jedes Jahr an die epidemiologische Situation angepasst werden. Die genaue Zusammensetzung wird von der WHO festgelegt. Für die aktuelle Saison 2019/20 sind das zum Beispiel mindestens die Stämme H1N1, H3N2, sowie Victoria87. Dass eine Impfung unter Umständen auch nicht ausreichend



(2) Übersicht der Zellen des Immunsystems. Die Zellen des angeborenen Immunsystems gelten als erste Abwehrbarriere bei viralen oder bakteriellen Infektionen. Darunter zählen zum Beispiel Makrophagen, dendritische Zellen, Monozyten und Granulozyten. Das adaptive Immunsystem steht in Verbindung mit den angeborenen Immunzellen und wird nachträglich aktiviert. Hier unterscheidet man B-Zellen von T-Zellen, wobei sich T-Zellen anhand der Oberflächenmoleküle CD4 und CD8 in weitere Subtypen unterteilen lassen.
Quelle: eigene Darstellung



(3) Schematische Darstellung der Immunantwort bei Infektion. Die Zellen des angeborenen Immunsystems erkennen das eingedrungene Virus und präsentieren dessen Antigene dem adaptiven Immunsystem. B- und T-Zellen erkennen Virusantigene mithilfe eines spezifischen Rezeptors und differenzieren sich in Effektor- oder Gedächtnisvorläuferzellen. Ist die Infektion aus dem Organismus beseitigt und erhalten die Immunzellen kein Signal mehr, leiten sie den programmierten Zelltod ein. Lediglich ausdifferenzierte Gedächtniszellen bleiben dem Immunsystem erhalten und können bei erneuter Infektion schnelle Gegenmaßnahmen einleiten.
Quelle: eigene Darstellung

ist, um sich vor einer Grippewelle zu schützen, zeigt die Grippesaison 2017/2018, die in Deutschland so gravierend wie seit einigen Jahren nicht mehr verlief und zu neun Millionen Influenza-bedingten Arztbesuchen führte, zwei Millionen mehr im Vergleich zur starken Grippesaison 2012/2013. Einer der Gründe hierfür war der unzureichende Impfschutz in der Bevölkerung, hervorgerufen durch zwei Faktoren: Zum einen durch eine relativ niedrige Impfquote (ca. 34,8 %) bei den besonders gefährdeten über 60-Jährigen (2016/2017, RKI); zum anderen durch die Impfung mit einem von den gesetzlichen Krankenkassen bezahltem trivalenten Impfstoff, der nicht die Yamagata-Linie des Influenza-Typs B enthielt und dadurch viele Menschen trotz Impfung an einer Grippe erkrankten. Daher wird zukünftig auch der quadrivalente Impfstoff, bestehend aus vier unterschiedlichen Grippeviren, von den Krankenkassen erstattet.

Dieser Fall zeigt, wie wichtig verbesserte und alternative Behandlungsmethoden sind, um besonders den gefährdeten Bevölkerungsgruppen im Ernstfall Hilfe leisten zu können. Unter dem Titel „Globale Influenza-Strategie 2019–2030“ hat die WHO daher einen konkreten Plan veröffentlicht. Darin enthalten ist zum Beispiel der Plan zur verstärkten Forschung, um neue und verbesserte Impfstoffe und Therapiemöglichkeiten zu entwickeln sowie ein für jedes Land individuelles, evidenzbasiertes Influenza-Programm für einen möglichen pandemischen Ausbruch vorzubereiten. Um den Impfschutz sowie die Wirkung einer Impfung über eine Grippesaison hinaus zu steigern, gibt es bereits vielversprechende Ansätze. Das Ziel einer dieser Ansätze könnte dabei sein, einen immunogeneren Impfstoff zu entwickeln, der ein stärkeres immunologisches Gedächtnis hinterlässt und einen sogenannten Kreuzschutz erzeugt, der gegen mehrere Virusstämme gleichzeitig schützt. Normalerweise erzeugt eine herkömmliche Grippeimpfung mit abgetöteten Viren einen Antikörper-basierten Schutz gegen die Oberflächenproteine HA und NA. Da sich diese Proteine sehr schnell austauschen, ist dieser Schutz meist nur saisonal effektiv. Bei einem Kreuzschutz wird dagegen auch ein immunologisches Gedächtnis gegen interne Proteine wie das Genom-assoziierte Nukleoprotein (NP) oder die Matrixproteine 1 und 2 (M1/M2) aufgebaut. Im Vergleich zu HA und NA sind diese Virusproteine nicht sehr variabel. Hier schützen dann vor allem T-Gedächtniszellen gegen eine Infektion. Diese T-Zellen sind zum Beispiel in der Lage, anhand von Influenza-Antigenen Virus-infizierte Zellen zu erkennen, die Immunantwort zu verstärken oder infizierte Zellen abzutöten,

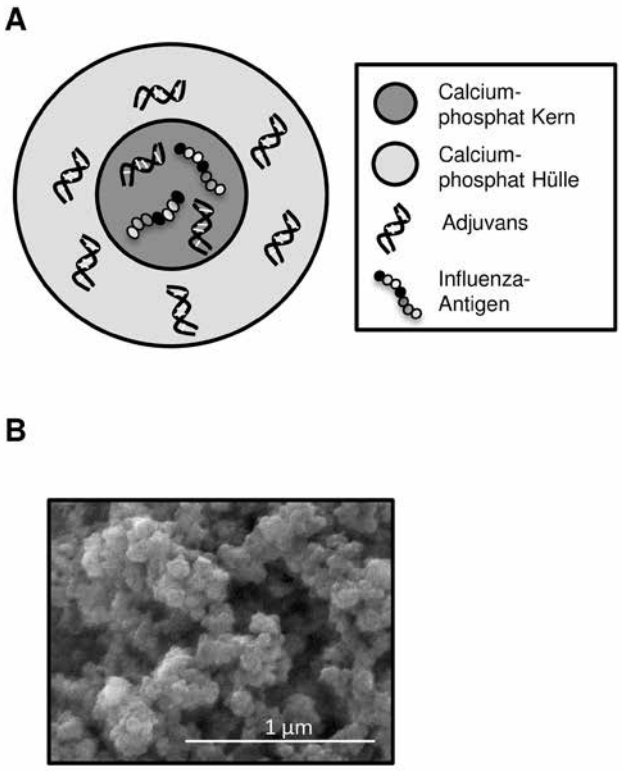
so dass sich das Virus nicht weiter verbreiten kann. In vorklinischen Tierexperimenten konnten wir mitunter zeigen, dass dies mit einem neuartigen Nanopartikel-basierten Impfstoff gelingen könnte. Auf Calcium und Phosphat (CaP)-basierende Nanopartikel lassen sich hervorragend mit Adjuvantien und T-Zell-Antigenen des Influenzavirus beladen (Abb. 4). Die Idee hinter diesem Ansatz beruht auf einer selektiven Auswahl an Virusantigenen für die Impfung, die einen Schutz gegen möglichst viele Varianten des Virus erreichen kann. Die Impfung von Versuchsmäusen mit diesen speziell funktionalisierten Nanopartikeln führte unter anderem zu einer gezielten Induktion von Influenzavirus-spezifischen zytotoxischen T-Gedächtniszellen, die das Virus im Infektionsfall schnell aus der Lunge eliminieren konnten[2]. Bei zytotoxischen T-Zellen handelt es sich um eine Untergruppe der T-Lymphozyten. Mithilfe von zytotoxischen Proteinen, unter anderem Perforin, Granzyme und Granulysin, sind diese Zellen bei Erkennung einer infizierten Zelle in der Lage, diese gezielt zu töten und die Verbreitung der Infektion zu unterbinden. Auch in einem HIV-verwandten Retrovirusmodell konnten wir diesen Nanopartikel-Impfstoff an das Retrovirus anpassen und einen effektiven T-Zell-vermittelten Impfschutz generieren[3].

Alternativen zur Impfung

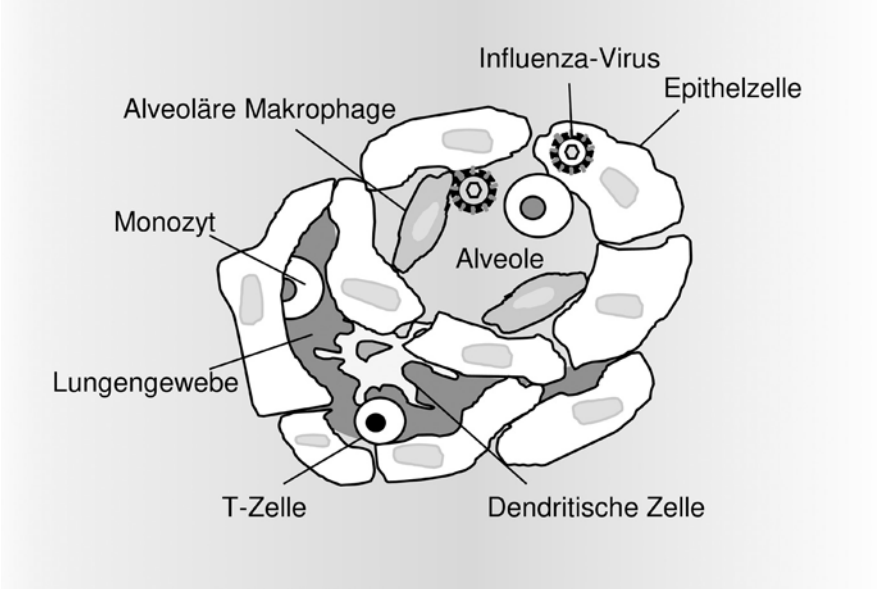
Neben einer Impfung stehen auch verschiedene therapeutische Möglichkeiten zur Verfügung, die auf die Aktivität der Neuraminidase abzielen und damit die Freisetzung der Viren aus der Zelle unterbinden sollen. Jedoch zeigt sich in den Mutationseigenschaften des Virus auch gleichzeitig der Schwachpunkt dieser Therapieoption, die bei möglichen mutationsbedingten Resistenzen nicht mehr wirksam ist. Daher wird nach weiteren Therapieansätzen geforscht, die helfen könnten, schwere Krankheitsverläufe zu kontrollieren.

Immuntherapie

Eine Möglichkeit besteht in der Immuntherapie, das bedeutet ein gezieltes Eingreifen in die Immunantwort auf eine Influenza-Infektion. Da die Lunge eine der größten Eintrittspforten für Fremdpartikel oder Mikroorganismen, wie Viren und Bakterien, darstellt, hat sie besondere Anforderungen an das Immunsystem. Um erfolgreich Mikroorganismen abwehren zu können, hat der Körper hier verschiedene Schutzmechanismen entwickelt. Dazu zählen vor allem das angeborene und das adaptive Immunsystem. Auch hier ist das angeborene Immunsystem dabei die erste Abwehrlinie gegen eindringende, schädliche Mikroorganismen. Monozyten können aus dem Blut in das Lungengewebe einwandern. Ihnen kommt zudem eine Sonderstellung zu, da sich aus ihnen dendritische Zellen oder Makrophagen entwickeln können. Makrophagen und dendritische Zellen sind dagegen auch bereits im Gewebe zu finden und dem ersten Kontakt mit eindringenden Mikroorganismen ausgesetzt. Diese Fresszellen sind ständig auf der Suche nach Mikroorganismen und bereit, diese schnell zu erkennen, zu neutralisieren und die nächsten Schritte der Immunantwort einzuleiten. Sie sind mit einem evolutionär konservierten Alarmsignal ausgestattet, das über verschiedene mustererkennende Rezeptoren, beispielsweise Strukturen von Mikroorganismen, erkennen und erste



(4) A) Schematische Darstellung von funktionalisierten Calciumphosphat (CaP)-Nanopartikeln als alternativer Influenza-Impfstoff. CaP-Nanopartikel bestehen aus einem mit viralen Antigenen- und Adjuvans-funktionalisiertem Kern, der mit einer weiteren Adjuvans-funktionalisierten Hülle stabilisiert wird. B) Elektronenmikroskopische Aufnahme von funktionalisierten CaP-Nanopartikeln. Die Größe eines einzelnen Partikels liegt bei etwa 100–150 Nanometern.
Quelle: eigene Darstellung, elektronenmikroskopisches Bild: Olga Rotan



(5) Schematisch vereinfachte Darstellung der Lokalisation der Immunzellen in der Lunge zu Beginn einer Infektion. Epithelzellen werden von Influenzaviren infiziert. Makrophagen sind die einzigen Immunzellen, die im Lumen der Atemwege und Alveolen zu finden sind. Daher sind sie die ersten Immunzellen, die mit dem Influenzavirus beziehungsweise Influenzavirus-infizierten Zellen in Kontakt kommen und dadurch nachhaltig die folgende Immunantwort beeinflussen.
Quelle: eigene Darstellung

Abwehrmaßnahmen einleiten kann. Darunter zählen zum Beispiel die Toll-ähnlichen Rezeptoren sowie der intrazelluläre Rezeptor Retinsäure-induzierbares-Gen-I (RIG-I), die in der Lage sind, virales Genom als fremd zu erkennen.

Die Lokalisation dieser Immunzellen unterscheidet sich in dem Atmungsorgan sehr, was auch für die fortlaufende Immunantwort auf ein eindringendes Virus oder Bakterium wichtig ist. In der Lunge lassen sich anatomisch zwei verschiedene Bereiche unterscheiden: der respiratorische Trakt, zu dem die Atemwege sowie auch die Luftröhre zählen, und das Lungenparenchym, das aus Millionen von Lungenbläschen (Alveolen) besteht, in denen der Gasaustausch mit den umliegenden Blutgefäßen stattfindet. Viele der genannten Immunzellen, inklusive der adaptiven Immunzellen, befinden sich hinter der Epithelzellbarriere, die das Lumen der Atemwege oder der Alveolen von dem Gewebe trennt (Abb. 5). Einzig Makrophagen sind auch innerhalb der Atemwege und Alveolen lokalisiert. Somit sind diese sogenannten alveolären Makrophagen zusammen mit den Epithelzellen, die ersten Zellen, die mit eindringenden Influenzaviren in Kontakt kommen und die nachfolgende Immunabwehr gegen das Virus maßgeblich beeinflussen. Diese ist geprägt durch ein Gleichgewicht der verschiedenen Immunzellen und ihren Funktionen am Infektionsort der Lunge. Die Suppression der Immunantwort durch alveoläre Makrophagen im gesunden Zustand verhindert eine Reaktion des Körpers auf ungefährliche Antigene, wie zum Beispiel Allergene. Dies erreichen die alveolären Makrophagen unter anderem durch die indirekte Induktion von sogenannten regulatorischen $CD4^+$-T-Zellen (Treg), indem sie den Tumorwachstumsfaktor-β (TGF-β) und das Vitamin-A-Derivat Retinsäure freisetzen. Diese beiden Faktoren spielen bei der Differenzierung von naiven $CD4^+$-T-Zellen zu Tregs eine wichtige Rolle. Tregs wiederum sind in der Lage, durch anti-inflammatorische Zytokine oder kontaktabhängige Mechanismen andere Zellen des Immunsystems in ihren Funktionen zu inhibieren und so die Immunantwort zu kontrollieren. Epithelzellen sind nicht nur das primäre Ziel des Influenzavirus, sondern auch gleichzeitig der Ausgangspunkt der Immunantwort. Denn absterbende, infizierte Epithelzellen, werden von den ansässigen alveolären Makrophagen aufgenommen, das Virus über das Rezeptor-basierte Alarmsystem erkannt und eine erste pro-inflammatorische Antwort mit Botenstoffen, sogenannten Zytokinen, ausgelöst. Diese ist geprägt von Zytokinen der Interferon Typ-I (Typ-I-IF-N)-Familie sowie Chemokinen. Typ-I-IFN stärken die Funktionalität von Immunzellen und initiieren die Expression zahlreicher antiviraler Proteine durch umliegende Zellen, die der Infektion entgegenwirken. Es konnte in Experimenten an Versuchsmäusen beispielsweise gezeigt werden, dass bei Fehlen des IFN-I-Rezeptors normalerweise harmlose Influenza-Infektionen nicht kontrolliert werden können[4]. Die Funktionen dieser alveolären Makrophagen in den Atemwegen sowie anderer Immunzellen, wie dendritische Zellen, Monozyten etc. im umliegenden Gewebe, scheinen streng durch verschiedene molekulare Mechanismen geregelt, so dass die Immunantwort immer einem ähnlichen Muster folgt. Einer dieser Mechanismen beruht auf dem zellulären Oberflächenmolekül CD200 und seinem Rezeptor (CD200R)[5]. CD200R wird von vielen Immunzellen auf der Zelloberfläche ausgebildet und übermittelt bei Erkennung von CD200 ein inhibierendes Signal an die Immunzellen. Das von Epithelzellen in der Lunge ausgebildete CD200 kontrolliert also in gewisser Weise die Immunantwort bei Infektion. Besonders vor einer überschießenden Antwort der alveolären Makrophagen schützt dieser Mechanismus, da CD200R besonders von diesem Zelltyp ausgebildet wird. In Experimenten, in denen mit gene-

tisch veränderten Mäusen gearbeitet wurde, denen das CD200-Molekül fehlte, konnten die Mäuse das Influenzavirus durch eine vermehrte Anzahl an alveolären Makrophagen in den Atemwegen besser aus der Lunge klären. Ausgehend von den Makrophagen führte dies allerdings daraus resultierend zu einer erhöhten Entzündungsreaktion im Allgemeinen. Bei Infektion beeinflussen aktivierte Makrophagen durch Zytokine und Chemokine weitere Immunzellen. Unter Chemokinen versteht man Lockstoffe, die am Ort der Infektion produziert werden und weitere Immunzellen, wie neutrophile Granulozyten oder Monozyten, zum Infektionsherd rekrutieren. Nach der Erkennung des Influenzavirus schütten alveoläre Makrophagen unter anderem das Chemokin CCL2 aus. Monozyten werden so über den Chemokinrezeptor 2 aus dem Blut an den Ort der Infektion rekrutiert, wo sie an der Klärung der Infektion aktiv durch Zytokinsynthese und Produktion von zelltoxischem Stickstoffmonoxid teilnehmen. Fehlte nun CD200 als inhibierendes Signal für die Makrophagen, wurden Monozyten vermehrt rekrutiert und aktiviert. Diese erhöhte Entzündungsreaktion führte letztendlich zu immunpathologischen Schäden am Lungengewebe, so dass die Sterblichkeit der Mäuse trotz erhöhter Virusklärung zunahm. Dies stellt zum einen die wichtige koordinierende Rolle der alveolären Makrophagen bei der Influenza-Infektion heraus sowie die Existenz eines körperregulierten Gleichgewichts der Immunzellen, um sich im Zweifelsfall vor eigenen Immunschäden zu schützen. Die Gefahr der immuninduzierten Gewebeschädigung konnte nachträglich auch für die „Spanische Grippe“ gezeigt werden, die womöglich durch eine Überreaktion des angeborenen Immunsystems zu schweren Pneumonien führte und mit erhöhten Mortalitätsraten einherging[6,7]. So sind Aufzeichnungen zu erklären, die die Haut der Erkrankten damals aufgrund der schweren Lungenschädigung und damit verbundenen Unterversorgung mit Sauerstoff, oft dunkelblau bis bräunlichviolett beschreiben. Weiterhin wurde die wichtige, aber nicht unentbehrliche Rolle der alveolären Makrophagen in Versuchen demonstriert, in denen diese gezielt deletiert wurden. Waren alveoläre Makrophagen bei Infektion nicht vorhanden, so sank die Fähigkeit des Immunsystems das Virus zu klären, und die Morbidität stieg drastisch an. Die Ursache lag unter anderem in den neutrophilen Granulozyten, welche die Lücke der deletierten alveolären Makrophagen auffüllten und durch übermäßige Ausschüttung von Zytokinen und Stickstoffmonoxid das Lungengewebe vermehrt schädigten. Somit kommt den alveolären Makrophagen eine sehr wichtige Rolle zu – sowohl in der Koordination der Immunantwort als auch bei der Klärung der Infektion. Gleichzeitig zeigt dies, dass eine ausgeglichene Zusammenstellung der ersten Barriere den Ausgang der Infektion stark beeinflussen kann. Neben CD200 stehen hier weitere molekulare Mechanismen unter dem Verdacht, ebenfalls wichtig für die Herstellung dieses immunologischen Gleichgewichtes zu sein.

Schutz-Protein CD47: auch wirksam gegen andere Infektionen und Krebs?

In vorklinischen Tierexperimenten untersuchen wir daher auch die Rolle des Oberflächenzellmembranproteins CD47 bei Influenza-Infektion und dessen Nutzen als mögliches Ziel für Immuntherapien. CD47 wird von nahezu allen Zellen des Körpers ausgebildet und besitzt wichtige Funktionen in der Kontrolle der Phagozytose von Zellen, der Mobilität und Verteilung von Zellen im Körper, sowie deren Funktionalität. Mit dem signalregulatorischen Protein-α (SIRPα) und Thrombospondin-1 (TSP1) sind bislang zwei verschiedene Liganden beziehungsweise Bindungspartner für CD47 bekannt. SIRPα wird vor allem auf angeborenen Immunzellen exprimiert und eine inhibierende Rolle zugeschrieben. Bindet beispielsweise ein von einer Körperzelle ausgebildetes CD47-Molekül an ein von Makrophagen ausgebildetes SIRPα-Molekül, so erhält die Makrophage ein Fressstoppsignal und verschont die Zelle vor der Phagozytose. Daher fungiert CD47 auch als Eigenmarker zum Schutz gesunder Körperzellen. Kürzlich konnte herausgestellt werden, dass sich Krebszellen diesen Mechanismus zu Nutze machen können. Bei einigen Krebsarten, wie zum Beispiel dem Colonkarzinom, Melanom oder auch Lungenkarzinom, konnte CD47 auf den Krebszellen erhöht nachgewiesen werden. Dadurch entziehen sich diese Krebszellen der Phagozytose durch Makrophagen und erhöhen damit ihre Überlebenschance.

Molekülblockade als Ansatz

Neue immuntherapeutische Ansätze beschäftigen sich deshalb mit der Blockade dieses Moleküls mithilfe von zielgerichteten Antikörpern, die eine Interaktion zwischen CD47 und SIRPα verhindern und damit die Phagozytose und Zerstörung der Krebszellen steigern[8]. Erste Ergebnisse fielen in Tierexperimenten sehr vielversprechend aus, weshalb bereits erste klinische Studien zur Wirksamkeit einer solchen Therapie im Menschen durchgeführt werden. Jedoch scheint CD47 nicht nur während der Immunantwort bei Krebs eine Rolle zu spielen, sondern auch bei Infektionen. Die zugrundeliegenden Mechanismen können hier jedoch völlig unterschiedlich sein. Es zeigte sich, dass Mäuse mit einer CD47-Gendeletion anfälliger für eine Infektion mit gramnegativen Bakterien waren, aufgrund einer verlangsamten Einwanderung von neutrophilen Granulozyten zum Infektionsherd. Dies bedeutet, dass

mithilfe einer CD47-gerichteten Therapie die Immunantwort auf eine Infektion moduliert werden könnte. Im Falle einer Influenza-Infektion könnte die Zusammensetzung sowie die Funktionalität der angeborenen Immunantwort, den Krankheitsverlauf bedeutend beeinflussen und zum Beispiel die Kontrolle der Infektion verstärken und gleichzeitig die immunbedingte Gewebeschädigung verringern. Erste Ergebnisse konnten hier tatsächlich eine geringere Gewebeschädigung nach Influenza-Infektion in der Lunge von Mäusen mit CD47-Gendeletion nachweisen, bei gleichzeitig erhöhter Klärung des Virus. Welche Mechanismen inklusive Bindungspartner dahinter stehen, ist bislang noch nicht geklärt. Die Hintergründe dieses Phänomens werden daher nun näher untersucht. Eine Vermutung liegt in einer Veränderung der ersten immunologischen Abwehrbarriere, so dass die Erkennung und Beseitigung des Virus positiv beeinflusst und die nachfolgende Immunantwort entscheidend umgelenkt wird.

Fazit

Zusammengefasst stellt das Influenzavirus trotz effektivem Impfstoff immer noch ein gesundheitliches Problem auf der ganzen Welt dar. Globalisierung und virale Mutationsfähigkeit sind nur zwei der Faktoren, die einen kompletten Infektionsschutz erschweren und alternative Behandlungsmethoden in den Vordergrund rücken, um im Falle einer Pandemie geeignete Gegenmaßnahmen einleiten zu können. Hier haben umfangreiche Forschungsarbeiten in den letzten Jahren dazu beigetragen, die Immunantwort und die Rolle der einzelnen Immunzellen bei Infektion auf molekularer Ebene besser zu verstehen, um dieses Wissen für mögliche neue Therapien nutzen zu können.

Summary

Influenza is still a global health problem, with approximately one billion cases worldwide each year. Due to the continuous antigenic changes, the influenza virus retains high pandemic risk potential. One of the worst pandemic outbreaks, from 1918 to 1920, killed more than 40 million people worldwide. Recent outbreaks have raised concerns that a new influenza pandemic might occur in the near future. Although a protective seasonal influenza vaccine is available, the vaccine is updated annually in order to target the virus expected to be the most prevalent, and every vaccine therefore only lasts for the respective season. Usually, the influenza season occurs during the winter months. New strategies must be developed in order to enhance the therapeutic possibilities of severe influenza disease. Innate immune cells, such as macrophages, dendritic cells and monocytes, are the first line of defence against viruses and bacteria and activate the adaptive immune response. In the lung, the primary location of the influenza infection, the distribution of these innate immune cells is controlled by several molecular mechanisms. Macrophages are the main cells found within the lumen of airways and alveoli and are therefore thought to play a central role in influenza defense, since they are the first cells that recognize the virus and influence the subsequent immune response. Better understanding of these molecular processes should aid development of alternative therapeutic strategies to treat severe influenza virus infections.

Anmerkungen/Literatur

1) „RKI-Ratgeber“, Influenza (Teil 1): Erkrankungen durch saisonale Influenzaviren, RKI Ratgeber, 2018. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Influenza_saisonal.html#doc2382022bodyText28
2) Knuschke, T., Sokolova, V., Rotan, O., Wadwa, M., Tenbusch, M., Hansen, W., Staeheli, P., Epple, M., Buer, J., Westendorf, A.M. Immunization with biodegradable nanoparticles efficiently induces cellular immunity and protects against influenza virus infection. J Immunol, 190; 2013: 6221–6229.
3) Knuschke, T., Bayer, W., Rotan, O., Sokolova, V., Wadwa, M., Kirschning, C.J., Hansen, W., Dittmer, U., Epple, M., Buer, J., Westendorf, A.M. Prophylactic and therapeutic vaccination with a nanoparticle-based peptide vaccine induces efficient protective immunity during acute and chronic retroviral infection. Nanomedicine, 10; 2014: 1787–1798.
4) Seo, S.U., Kwon, H.J., Ko, H.J., Byun, Y.H., Seong, B.L., Uematsu, S., Akira, S., Kweon, M.N. Type I interferon signaling regulates Ly6C(hi) monocytes and neutrophils during acute viral pneumonia in mice. PLoS Pathog, 7; 2011, e1001304.
5) Snelgrove, R.J., Goulding, J., Didierlaurent, A.M., Lyonga, D., Vekaria, S., Edwards, L., Gwyer, E., Sedgwick, J.D., Barclay, A.N., Hussell, T. A critical function for CD200 in lung immune homeostasis and the severity of influenza infection. Nat Immunol, 9; 2008: 1074–1083.
6) Tumpey, T.M., García-Sastre, A., Taubenberger, J.K., Palese, P., Swayne, D.E., Pantin-Jackwood, M.J., Schultz-Cherry, S., Solórzano, A., Van Rooijen, N., Katz J.M., Basler, C.F. J Virol, 79; 2005: 14933–14944.
7) Cheung, C.Y., Poon, L.L., Lau, A.S., Luk, W., Lau, Y.L., Shortridge, K.F., Gordon, S., Guan, Y. Peiris, J.S. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? Lancet, 360; 2002: 1831–1837.
8) Veillette, A. and Chen, J. SIRPαCD47 Immune Checkpoint Blockade in anticancer Therapy. Trends in Immunol, 39; 2018: 173–184.

Der Autor

Torben Knuschke studierte von 2004 bis 2009 Medizinische Biologie mit den Schwerpunkten Immunologie, Virologie und Mikrobiologie an der Universität Duisburg-Essen. Die Promotion zum Doktor der Naturwissenschaften erfolgte 2013 ebenfalls in Essen, am Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Essen. Seine Arbeit mit dem Thema „Etablierung und Charakterisierung von biodegradierbaren Calciumphosphat Nanopartikeln zur Induktion potenter anti-viraler T-Zellantworten“ wurde von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene

und Mikrobiologie (DGHM) mit dem Promotionspreis 2013 honoriert. Anschließend beschäftigte er sich wissenschaftlich weiterhin mit der Manipulation des Immunsystems im Kontext von Infektionskrankheiten. Im Jahr 2015 absolvierte er mithilfe von Fördergeldern des Deutschen Akademischen Auslanddienstes (DAAD) am Ragon Institute of Massachusetts General Hospital, Harvard and MIT in Boston einen Auslandsaufenthalt und forschte dort an einem HIV-Impfstoff. Im Anschluss kehrte er ans Institut für Medizinische Mikrobiologie in Essen zurück und leitet dort seit 2017 im Rahmen des von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderten Graduiertenkollegs 1949 eine wissenschaftliche Nachwuchsgruppe.

Bislang sind die genauen molekularen Mechanismen fast aller medizinisch wichtigen Anwendungen der Interferone und besonders der verschiedenen Subtypen kaum verstanden. Ein größerer Einblick, wie genau Interferone Virusinfektionen beeinflussen, kann durchaus zur Entwicklung von potenten IFN-basierten Immuntherapien führen, die spezifischer und effektiver in ihrer biologischen Wirkung sind als die bisher zugelassenen IFN-Therapien.

Die Einmischer: Interferone

Wie sie die Immunantwort beeinflussen, um Viren effektiv zu bekämpfen

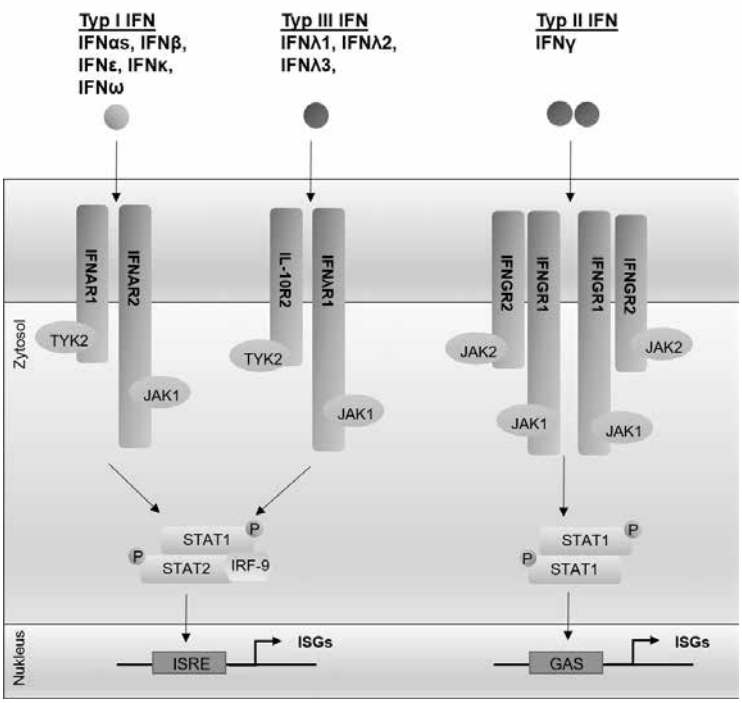
Von Kathrin Sutter

Interferone wurden zum ersten Mal im Jahre 1957 von dem britischen Virologen Alick Isaac und dem Schweizer Virologen und Immunologen Jean Lindenmann am National Institute for Medical Research in London beschrieben. Die beiden Mediziner entdeckten, dass Zellen, die von einem hitzeinaktiviertem Virus infiziert wurden, eine unbekannte Substanz freisetzten, die zukünftige Virusinfektionen inhibierte. Dieser lösliche antivirale Faktor wurde als Interferon (engl. to *interfere* „sich einmischen", „eingreifen", kurz: IFN) bezeichnet.

Interferone sind Zytokine, die vom Immunsystem nach der Erkennung verschiedener Pathogene (z.B. Viren oder Bakterien) ausgeschüttet werden. Man unterscheidet hierbei zwischen Typ-I-, -II- und -III-Interferonen. Zu den Typ-I-IFN gehört eine große Familie verwandter Zytokine, unter anderem verschiedene IFNα-Subtypen: IFNβ, IFNε, IFNτ, IFNδ, IFNϰ und IFNω. Sie besitzen antivirale und antiproliferative Aktivität und können darüber hinaus Immunzellen beeinflussen. IFNγ, der einzige Vertreter der Typ-II-IFN, wird vor allem von T-Zellen und Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) sekretiert. Im Jahre 2003 wurden die Typ-III-IFN mit den Vertretern FNλ1, IFNλ2 und IFNλ3 zum ersten Mal beschrieben. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Abwehr von Virusinfektionen, allerdings ist deren Rezeptor nur auf bestimmten Zellen und Geweben zu finden, wohingegen der Rezeptor der Typ-I-IFN ubiquitär exprimiert wird.

Alle Typ-I-IFN binden an den gleichen Rezeptor, den IFNα/β-Rezeptor (IFNAR). Dieser Rezeptor besteht aus zwei Untereinhei-

Kathrin Sutter. Foto: Vladimir Unkovic



(1) IFN-aktivierte Signalkaskaden: Durch die Bindung von Typ-I- oder Typ-II-IFN an seinen Rezeptor kommt es zur Aktivierung der Rezeptor-assoziierten Tyrosinkinasen JAK1 und TYK2 (*Tyrosine kinase* 2), die STAT1 und STAT2 phosphorylieren. Die phosphorylierten STATs heterodimerisieren, interagieren mit dem DNA-bindenden Protein IRF9 und translozieren in den Zellkern. Dieser Komplex bindet an das IFN-stimulierte Antwortelement (ISRE) in den Promotoren vieler ISGs, wodurch es zur Transkription diverser Gene kommt. Nach Bindung von IFNγ an seinen Rezeptor kommt es zur Phosphorylierung von STAT1, das als Homodimer im Zellkern an die IFNγ-aktivierte Stelle (GAS) bindet und die Transkription diverser Gene induziert.
Quelle: Kathrin Sutter

ten, IFNAR1 und IFNAR2, und kommt auf fast allen Zellen vor. Durch die Bindung von IFN an den Rezeptor wird der JAK/STAT (*Janus activated kinase–signal transducer and activation of transcription*)-Signalweg aktiviert, der in die Transkription hunderter IFN-stimulierter Gene (ISGs) resultiert (Abb. 1). Neben der Aktivierung des klassischen JAK/STAT-Signalwegs, können Typ I-IFN auch weitere Signaltransduktionswege regulieren.

Effektorfunktionen von Typ-I-Interferonen

Durch die Stimulation von Zellen mit Typ-I-IFN wird die Expression vieler verschiedener ISGs induziert, die sowohl die virus-infizierte Zelle als auch benachbarte Zellen in einen antiviralen Zustand versetzen können. Dies bedeutet, dass nicht-infizierte Zellen sich für eine zukünftige Infektion wappnen und in bereits infizierten Zellen die Virusvermehrung aktiv inhibiert wird. Dabei können unterschiedliche Schritte im Replikationszyklus des Virus gehemmt werden, wie zum Beispiel das *Uncoating* der Virushülle, die Transkription, die Proteintranslation, die Zusammensetzung oder die Freisetzung neu entstandener Viren. Neben diesen direkten und indirekten antiviralen Effektormechanismen der Typ-I-IFN können diese auch die Funktionen von Immunantworten beeinflussen. So kann die Stimulation mit Typ-I-IFN die Reifung und Aktivierung von Dendritischen Zellen (DCs) beeinflussen, die wichtig für die Initiation einer Immunantwort sind. Eine erhöhte Expression der Chemokinrezeptoren (CCR) 5 und CCR7 führt zur Migration von Immunzellen in anliegende lymphatische Organe; Typ-I-IFN induzieren die Expression der Chemokinrezeptor-Liganden (CXCL) 9 und CXCL10, die wiederum als Lockstoffe für T-Zellen zur Infektionsstelle dienen. Darüber hinaus induzieren Typ-I-IFN die Produktion von Zytokinen wie IL-6, IL-12 und IL-15 in DCs, was die $CD8^+$-T-Zelleffektorfunktion beeinflusst. Es kommt weiterhin zu einer gesteigerten Expression von Zytokinen sowie zytotoxischen Molekülen in $CD8^+$-T-Effektorzellen.

Typ-I-IFN können außerdem auch auf NK-Zellen wirken und deren Proliferation, Zytotoxizität und IFNγ-Sekretion induzieren. Des Weiteren wird durch Typ-I-IFN die Antikörperproduktion in B-Zellen stimuliert und der Isotypwechsel der Antikörper beeinflusst.

Therapeutische Nutzung von IFNα

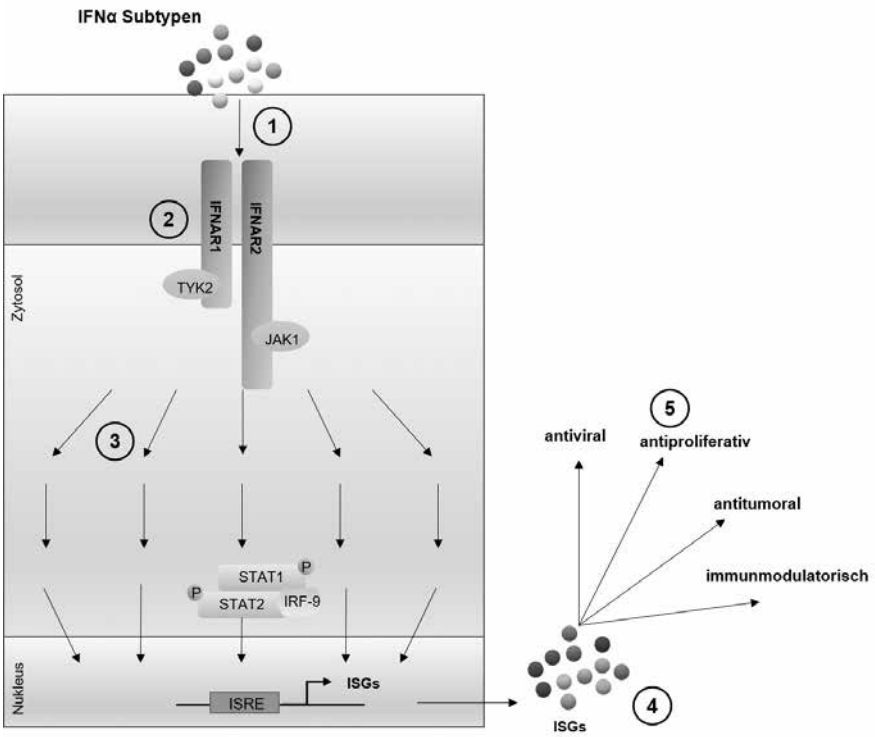
Als IFN 1957 entdeckt und 1979 zum ersten Mal kloniert wurde, dachten viele Virolog*innen, ein potentes Allheilmittel gegen Virusinfektionen gefunden zu haben. In den letzten 40 Jahren wurden besonders Infektionen mit dem Hepatitis-B-Virus (HBV) oder Hepatitis-C-Virus (HCV) mit IFNα in Monotherapien und Kombinationstherapien behandelt. Jedoch ist der Erfolg der Behandlung limitiert und von zahlreichen Faktoren abhängig, wie zum Beispiel vom Genotyp des Virus, der Viruslast zu Beginn der Therapie, Koinfektionen mit weiteren Viren, Alter, Gewicht und Geschlecht des*r Patient*in. Aber auch die antitumorale Eigenschaft von IFNα führte zum Einsatz von IFN als Therapie bei Haarzellleukämie, chronischer myeloischer Leukämie, Melanomen

oder Nierenzellkarzinomen. Da die anhaltenden virologischen Therapieansprechen (engl. *sustained virological response*, SVR) mit IFNα unter 30 Prozent liegen und die Nebenwirkungen (Fieber, Erschöpfung, Kopfschmerzen, Übelkeit, Verwirrtheit, Depressionen, etc.) recht schwerwiegend sind, wird seit 2014 eine IFN-freie Therapie mit direkt antiviralen Medikamenten (Proteaseinhibitoren, NS5A-Inhibitoren, NS5B-Inhibitoren) bei HCV durchgeführt, die zu über 90 Prozent eine Heilung hervorruft. Allerdings werden bis heute chronische HBV-Patient*innen und HBV-/HDV-Patient*innen mit pegyliertem IFNα behandelt, und auch eine Behandlung als Kombination mit anderen Therapeutika (zytotoxische Medikamente, Hormone, Radiotherapie, Immunstimulatoren) bei Tumorerkrankungen ist vielversprechend.

Durch die komplexen Effektorfunktionen von Typ-I-IFN ist es schwierig, den zugrundeliegenden Wirkmechanismus genau zu charakterisieren. Mehrere Studien haben versucht, den genauen molekularen Mechanismus der IFN-Therapie zu identifizieren. Obwohl man herausfand, dass durch die Expression von zahlreichen ISGs durch Typ-I-IFN die Virusreplikation direkt gehemmt wird, werden die immunmodulatorischen Eigenschaften von Typ-I-IFN immer noch kontrovers diskutiert. Zum einen wird eine potente Immunabwehr benötigt, um virusinfizierte Zellen zu eliminieren, allerdings darf diese nicht so stark sein, dass es zu Gewebsschädigungen durch das eigene Immunsystem kommt.

Rolle von verschiedenen IFNα-Subtypen

Zu der Gruppe der humanen Typ-I-Interferone zählen IFNα, IFNβ, IFNε, IFNϰ und IFNω, wobei IFNα aus zwölf verschiedenen Subtypen besteht. IFNα-Subtypen existieren in unterschiedlicher Anzahl in allen Arten von Wirbeltieren, wie zum Beispiel Mäusen, Schweinen, Fledermäusen, Schimpansen, und entwickelten sich wahrscheinlich aus einem gemeinsamen Vorläufergen durch Genkonversion und Vervielfältigung. Alle IFNα-Subtypen haben Ähnlichkeiten in der Struktur, wie das Fehlen von Introns (nicht-kodierender DNA-Abschnitt) oder die Länge des Proteins (161–167 Aminosäuren), und deren Proteinsequenzen sind hochkonserviert (75–99 % Aminosäuresequenzidentität). Sie binden alle an den gleichen Rezeptor, mit den beiden Untereinheiten IFNAR1 und IFNAR2, jedoch unterscheidet sich die Bindungsaffinität zwischen den Subtypen sehr stark. Zum Beispiel ist die Affinität von humanem IFNα1 zu der Rezeptoruntereinheit IFNAR2 viel geringer verglichen mit allen anderen Subtypen (40–550-fach niedriger). Darüber hinaus wurde bereits gezeigt, dass die unterschiedlichen IFNα-Subtypen neben dem klassischen JAK-STAT-Signalweg in der Lage sind, auch andere Signalkaskaden zu aktivieren, wie zum Beispiel die Phosphorylierung verschiedener STAT-Moleküle, MAP-Kinasen oder Phosphoinositid-3-Kinasen (PI3K). Die Aktivierung dieser verschiedenen Signalwege führt dann zur Expression verschiedener ISGs, die je nach IFNα-Subtyp und Zelltyp variieren können. Es gibt zunehmend Hinweise, dass die unterschiedlichen Bindungsaffinitäten, die Rezeptoravidität, der Zelltyp, die Mikroumgebung, das Timing und das Feintuning der nachgeschalteten aktivierten Signalkaskaden die Antwort auf die



(2) Vereinfachte schematische Darstellung der IFNα-Subtypen und ihrer unterschiedlichen Wirkungsweisen. 1 Die verschiedenen IFNα-Subtypen binden mit unterschiedlichen Affinitäten an ihren Rezeptor, 2 dessen Expression auf den verschiedenen Zellen/Geweben sich je nach Virusinfektion unterscheidet. Nach der Bindung der IFNα-Subtypen kommt es zur Aktivierung verschiedener Signaltransduktionswege 3, was zur Expression hunderter verschiedener ISGs führt 4. All diese ISGs besitzen unterschiedliche Effektorfunktionen 5.
Quelle: Kathrin Sutter

einzelnen IFNα-Subtypen beeinflusst (Abb. 1), jedoch ist der genaue molekulare Mechanismus bis heute nicht geklärt. Allerdings zeigten viele verschiedene *in vitro*- und *in vivo*-Studien bereits deutliche Unterschiede in der biologischen Effektorfunktion der verschiedenen IFNα-Subtypen, wie zum Beispiel deren antivirale und immunmodulatorische Aktivität.

In vielen klinischen Studien wurde bereits der therapeutische Effekt von Typ-I-IFN während einer Infektion mit dem Humanen Immundefizienzvirus (HIV) untersucht. Obwohl zunächst vielversprechende Ergebnisse in kleineren Studien erzielt werden konnten, stellte sich durch große, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studien heraus, dass durch die Typ-I-IFN-Monotherapie kein signifikanter Erfolg erzielt werden konnte. Allerdings wird bisher nur der Subtyp IFNα2 therapeutisch gegen chronische Virusinfektionen und diverse Krebserkrankungen eingesetzt, wohingegen die anderen IFNα-Subtypen bisher in klinischen Studien vernachlässigt wurden.

Es besteht ein komplexer Zusammenhang zwischen der Wirksamkeit der einzelnen IFNα-Subtypen und den vielen Mechanismen, die durch ein Zusammenspiel diverser Faktoren beeinflusst werden (Virus, Zelltyp, etc.). Allerdings würde eine Therapie mit unterschiedlichen IFNα-Subtypen eine Möglichkeit darstellen, Viruserkrankungen effektiv, spezifisch und möglicherweise mit weniger Nebenwirkungen zu behandeln.

Chronische Viren und deren Tiermodelle

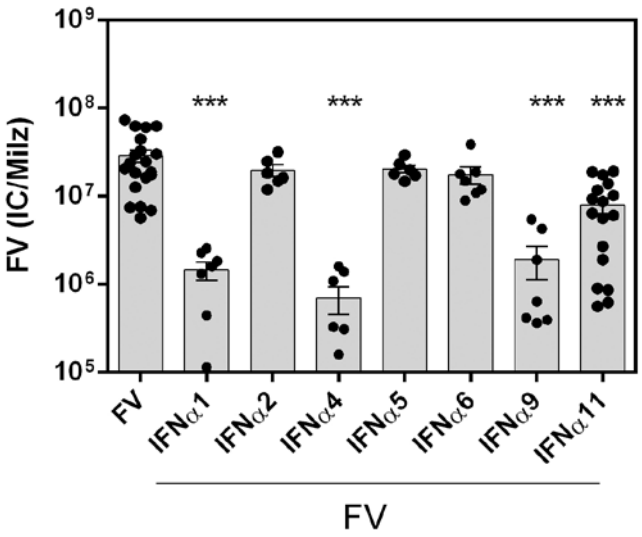
Laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) sterben weltweit zwei von drei Menschen an übertragbaren chronischen Erkrankungen, die durch entsprechende Therapien erfolgreich behandelt werden könnten. Für einige Infektionskrankheiten stehen bereits effektive Therapien oder Impfungen zur Verfügung, jedoch sind bis heute nicht alle chronischen Virusinfektionen heilbar. Allein mit Hepatitis-Viren (HBV und HCV) und dem Humanen Immundefizienzvirus (HIV) sind weltweit mehr als 500 Millionen Menschen chronisch infiziert, das heißt sie sind lebenslang Virusträger*innen. Die Krankheiten, die diese Viren verursachen, wie AIDS (erworbenes Immunschwächesyndrom) oder Hepatitis, treten in der Regel erst während der chronischen Infektion auf, während die klinischen Symptome kurz nach der Infektion meistens harmlos sind. Um in einem Wirt persistieren zu können, müssen die Viren einer Zerstörung durch das Immunsystem entgehen, was durch Immuntherapien effektiv bekämpft werden soll.

Die Entwicklung und Testung von Immuntherapien bei HIV-Infektionen wird dadurch erschwert, dass sich nur Menschen mit HIV infizieren können und dadurch ein geeignetes Kleintiermodell fehlt. Daher werden neben Experimenten in Primaten mit dem Affen-Immundefizienzvirus (SIV) auch Infektionen mit anderen Retroviren in Mäusen durchgeführt. Ein besonders gut charakterisiertes Modell ist das Friend Virus (FV), das im Gegensatz zu HIV andere Zielzellen infiziert und bei dem die Pathogenese der Infektion unterschiedlich verläuft. Allerdings ähneln sich die Immunantworten gegen beide Retroviren, so dass die Friend Virus-Infektion in der Maus als Modell für die Aufklärung von Immunantworten und zur Entwicklung von Immuntherapien gegen humane Retroviren, wie zum Beispiel HIV, genutzt werden kann. Seit einiger Zeit ist die Nutzung von humanisierten Mäusen, die ein humanes Immunsystem besitzen, ein neuer Fortschritt im Hinblick auf die Erforschung komplexer humaner Immunantworten und damit verbundener Krankheiten. Das erfolgreichste Modell für die Erforschung von HIV ist das BLT (Knochenmark, Leber, Thymus; engl. *bone marrow, liver, thymus*)-Modell. Nach Ganzkörperbestrahlung erhalten immundefiziente (Rag2$^{-/-}$γc$^{-/-}$) Mäuse Transplantate von humanen fötalen Gewebsfragmenten der Leber, des Thymus und der Nierenkapsel. Hieraus entwickeln sich organähnliche Strukturen. Durch eine zusätzliche Injektion mit hämatopoetischen Stammzellen (CD34^{+}) desselben Spenders entwickeln sich humane Lymphozyten. Eine häufige Komplikation während der Generierung von humanisierten Mäusen ist die Reaktion des Transplantats gegen den Wirt (engl. *graft-versus-host disease*). Neuere Generationen von humanisierten Mäusen entgehen dieser Abstoßungsreaktion durch einen zusätzlichen Gen-Knockout von CD47. Diese sogenannten BLT-humanisierten Rag2$^{-/-}$γc$^{-/-}$ CD47$^{-/-}$-Mäuse lassen sich daher für chronische Infektionsexperimente verwenden, können effizient mit HIV infiziert werden und entwickeln virus-spezifische T- und B-Zellantworten.

Nach der Entdeckung von HIV im Jahre 1983 begannen sofort die ersten Forschungsstudien zur Entwicklung von Therapiemöglichkeiten und einem geeigneten Impfstoff. Aktuell sind 37,9 Millionen Menschen weltweit mit HIV infiziert, und etwa 23,9 Millionen Menschen haben Zugang zu der bisher einzig wirksamen antiretroviralen Therapie (ART). Das sind deutlich mehr Patient*innen als noch im Jahre 2010, als nur etwa 7,7 Millionen Menschen eine ART erhielten (WHO UNAIDS, Stand 2019). Trotzdem ist eine Heilung bisher nicht möglich, weshalb die Forschung an HIV immer noch im Fokus der Wissenschaft steht.

Antivirale und immunmodulatorische Eigenschaften der IFNα-Subtypen in retroviralen und hepadnaviralen Infektionen der Maus

Die Diversität der verschiedenen IFNα-Subtypen in verschiedenen



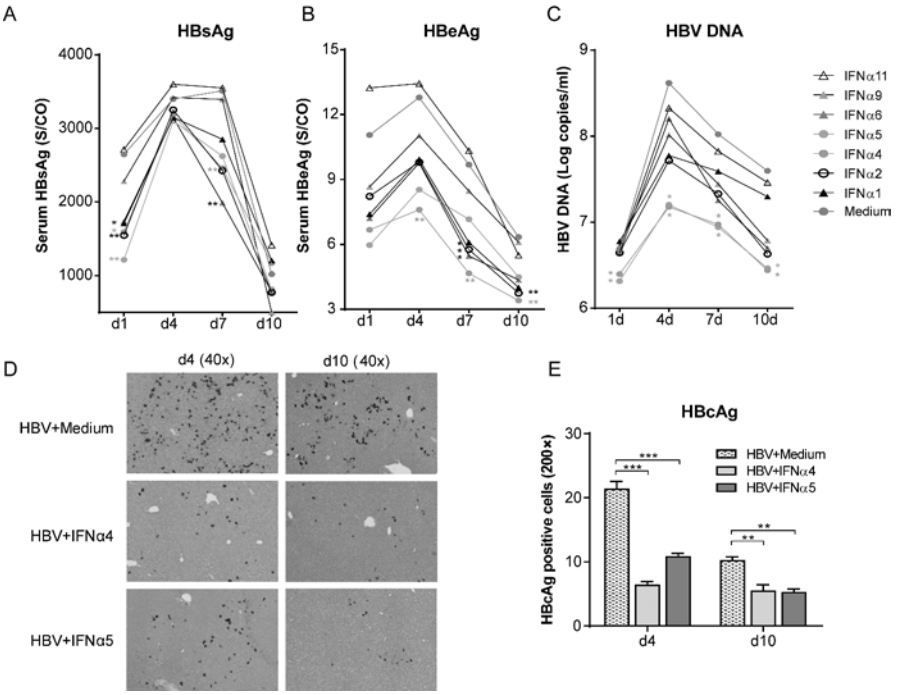
(3) Einfluss der murinen IFNα-Subtypen auf die FV-Replikation *in vivo*: C57BL/10AxA. BY-Mäuse wurden zu den Zeitpunkten ein Tag vor bis neun Tage nach Infektion mit FV mit den verschiedenen murinen IFNα-Subtypen behandelt. Zehn Tage nach Infektion wurde die Anzahl der infektiösen Zellen (IC) in der Milz mittels „Infectious center assays" bestimmt. Mindestens 6 Mäuse pro Gruppe wurden in der akuten Infektion auf ihre Viruslast in der Milz untersucht; die Mittelwerte für jede Gruppe sind durch einen Balken dargestellt. Die Unterschiede zwischen den IFNα-Subtyp-behandelten Mäusen und der unbehandelten Kontrolle (FV) wurden mit Hilfe des *one-way ANOVA* und *Dunn´s multiple comparison* analysiert und als *** für $p < 0{,}001$ gezeigt.
Quelle: Gibbert K., et al., PLoS pathogens, 2012; Gerlach N. et al., Eur J Immunol, 2009

Virusinfektionen ist bis heute kaum erforscht. Nur wenige Studien unterscheiden zwischen den zahlreichen IFNα-Subtypen, so dass deren biologische Eigenschaften bis heute nur wenig charakterisiert wurden. In eigenen Arbeiten wurde die Rolle von murinen IFNα-Subtypen in der akuten Friend-Retrovirus-Infektion in der Maus untersucht. Das Friend-Virus selbst verhindert eine starke IFN-Induktion in der infizierten Maus, so dass eine therapeutische Gabe von IFNα im Hinblick auf die Inhibition der Virusreplikation und der Verstärkung der virus-spezifischen Immunantwort einen Vorteil für die Maus bringen könnte. Dazu wurden Mäuse täglich mit murinen IFNα-Subtypen (nicht pegyliert), die im Labor selbst rekombinant hergestellt und aufgereinigt wurden, behandelt und die Viruslast und Immunantworten analysiert. Bis heute wurden insgesamt sieben murine IFNα-Subtypen therapeutisch in der akuten FV-Infektion ausgetestet und deren antivirale und immunmodulatorische Aktivitäten analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass alle sieben Subtypen (mu IFNα1, α2, α4, α5, α6, α9, α11) die FV-Replikation *in vitro* hemmen konnten, allerdings konnte nur mit den Subtypen IFNα1, α4, α9 und α11 eine signifikante Reduktion der Viruslast in FV-infizierten Mäusen erzielt werden (Abb. 3). Alle Subtypen waren in der Lage, die Induktion von antiviralen ISGs zu stimulieren (Proteinkinase R, Oligoadenylatsynthetase); allerdings führte auch eine Therapie mit einer 10-fach höheren Konzentration an IFNα2, α5 und α6 zu keiner signifikanten Suppression der Virusreplikation. Dies bedeutet, dass diese Subtypen *in vivo* nicht antiviral wirken, was auch nicht durch eine starke Erhöhung der Konzentration verändert werden kann.

Weiterhin wurde beobachtet, dass nur zwei Subtypen die Immunantwort signifikant verstärkten, allerdings war deren Wirkung sehr unterschiedlich. Eine therapeutische Behandlung mit IFNα1 resultierte in einer gesteigerten Anzahl an virus-spezifischen $CD8^+$-T-Zellen, welche an der Kontrolle der FV-Infektion beteiligt waren. Im Gegensatz dazu, führte eine Behandlung mit IFNα11 zu einer verbesserten NK-Zell-Effektorantwort, welche infizierte Zellen signifikant eliminierte.

Ähnliche therapeutische Experimente mit verschiedenen murinen IFNα-Subtypen wurden auch in einem Mausmodell für HBV durchgeführt. Mäuse lassen sich nicht mit HBV infizieren, allerdings lassen sich die Hepatozyten der Maus *in vivo* mittels hydrodynamischer Injektion (HI) mit einem HBV-kodierenden Plasmid stabil transfizieren. Diese Transfektion führt zu einer Produktion von HBV-Antigenen und einer Induktion einer HBV-spezifischen Immunantwort in der Leber und stellt somit ein gutes *in vivo* Modell zur Untersuchung von Immunantworten gegen akute und chronische HBV-Infektionen dar. Dazu wurden Mäuse mit murinen IFNα-Subtypen behandelt und virale Antigenkonzentrationen und Immunantworten analysiert. Wie in Abbildung (4) gezeigt, führte eine Behandlung mit mu IFNα4 oder mu IFNα5 zu einer signifikanten Reduktion der viralen Antigene (HBsAg, HBeAg, HBcAg) wie auch der viralen DNA im Vergleich zur unstimulierten Kontrolle (Medium).

Weiterhin wurde mit den IFNα-Subtypen 4 und 5 eine signifikante Induktion verschiedener ISGs (ISG15, OAS, PKR) induziert, die durch die HBV-Transfektion alleine nicht exprimiert wurden. Besonders IFNα4 führte zu einer verstärkten Aktivierung und Effektorfunktion von NK-Zellen (CD69, Granzym B, TNFα) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Auch T-Zell-Antworten (Granzym B, IFNγ, TNFα, IL-2) wurden durch IFNα4 signifikant verbessert.



(4) Kinetik der HBV-Replikation in IFNα Subtyp-behandelten Mäusen: Mäuse erhielten eine hydrodynamische Injektion mit 10µg des pAAV-HBV1.2 Plasmids. Zusätzlich wurden die Mäuse täglich mit 8000 units rekombinantem IFNα1, IFNα2, IFNα4, IFNα5, IFNα6, IFNα9 oder IFNα11 behandelt, beginnend einen Tag vor bis neuen Tage nach HI. Mausserum wurde zu den angegebenen Zeitpunkten gesammelt. (A) HBsAg, (B) HBeAg und (C) HBV-DNA-Level wurden zu den angegebenen Zeitpunkten nach HI bestimmt. An Tag 4 oder 10 nach HI wurden die Mäuse getötet und die Lebern untersucht. Immunohistochemische Färbungen mit anti-HBc-Antikörpern wurden von Leberschnitten (D) durchgeführt und die Anzahl an HBcAg-positiven Zellen ist dargestellt (E). Mindestens vier Mäuse wurden pro Gruppe untersucht; die Mittelwerte sind als Punkte (A-C) oder Balken (E) dargestellt. Die statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der IFN-behandelten Gruppe und der unbehandelten Kontrollgruppe wurden mit Hilfe des *one-way ANOVA* und *Dunn´s multiple comparison* analysiert und als * für $p < 0{,}05$, ** für $p < 0{,}01$ und *** für $p < 0{,}001$ angezeigt.
Quelle: Song J. et al., Sci Rep, 2017

Durch diese Studie konnten zum ersten Mal die unterschiedlichen anti-HBV-Effekte von sieben getesteten IFNα-Subtypen in einem HBV-Mausmodell untersucht werden. Auch hier wie bereits in den akuten Friend Virus-Versuchen zeigte sich, dass manche IFNα-Subtypen besonders stark die Virusreplikation inhibierten, wohingegen andere Subtypen eher eine untergeordnete antivirale Wirkung aufwiesen. Es zeigten sich auch die bereits erwähnten unterschiedlichen antiviralen und immunmodulatorischen Eigenschaften der verschiedenen IFNα-Subtypen und wie unterschiedlich diese in verschiedenen Virusinfektionen, Zelltypen und Geweben sind. Eine genaue Aufklärung dieser unterschiedlichen Wirkweisen der IFNα-Subtypen könnte relevant sein für zukünftige Therapieansätze gegen chronische Virusinfektionen, um für jedes Virus die beste IFN-Therapie, gegebenenfalls auch Kombinationen von verschiedenen IFNα-Subtypen, zu finden.

IFNα-Subtyp-spezifische Inhibition der HIV-1-Infektion *in vivo*

In der HIV-Infektion wurde bereits pegyliertes IFN**α**2 als Monotherapie oder in Kombination mit antiretroviraler Therapie in klinischen Studien getestet. Insgesamt wurde aber nur ein sehr geringes Therapieansprechen (Reduktion der Viruslast, verminderte CD4-Depletion) beschrieben. Allerdings gibt es neben humanem IFNα2 noch elf andere humane IFNα-Subtypen, die unterschiedliche biologische Aktivitäten aufweisen.

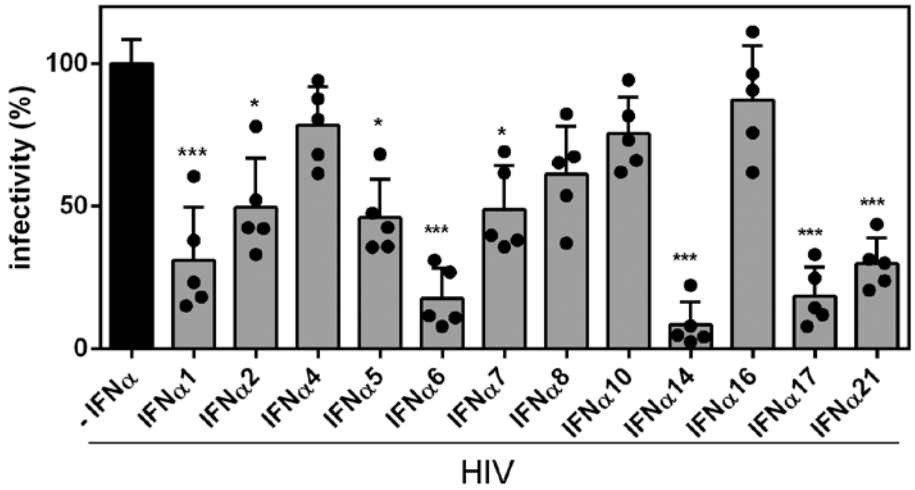
Wir konnten bereits zeigen, dass nur bestimmte IFNα-Subtypen während einer akuten und chronischen HIV-Infektion induziert werden, allerdings war deren antivirale Aktivität während einer HIV-Infektion unbekannt. Daher wurden in ersten Experimenten Blutzellen (PBMCs) von gesunden humanen Proband*innen mit HIV infiziert. Zusätzlich wurden die infizierten Zellen mit unterschiedlichen Konzentrationen von rekombinanten humanen IFNα-Subtypen, die wir selbst im Labor produzieren und aufreinigen, für zwei Tage stimuliert und die Inhibition der Virusreplikation wurde untersucht. Mittels einer HIV-sensitiven Reporterzelllinie (Abb. 5) und einem ELISA für das virale p24-Protein in den infizierten Zellen wurde die Inhibition der Virusreplikation im Vergleich zur unbehandelten (mock) Kontrolle bestimmt. Alle IFNα-Subtypen waren in der Lage, die Konzentration an HIV-p24-Antigen in den Zellen zu reduzieren, allerdings unterschiedlich stark. Nur die Subtypen IFNα6, IFNα14, IFNα17 und IFNα21 waren in der Lage, die Virusreplikation signifikant zu supprimieren. Interessanterweise führte eine Stimulation mit dem klinisch eingesetzten Subtyp IFNα2 nur zu einer moderaten Reduktion der Virusreplikation.

Der potenteste rekombinante Subtyp IFNα14 und der klinisch verwendete Subtyp IFNα2 wurden in weiteren Experimenten *in vivo* therapeutisch eingesetzt. Da sich Mäuse nicht mit HIV-1 infizieren lassen, wurden dazu humanisierte Mäuse verwendet, die ein humanes Immunsystem besitzen und somit suszeptibel für eine HIV-Infektion

sind. In Kooperation mit Kim J. Hasenkrug und Kerry J. Lavender (NIH Montana, USA) wurden die dazu verwendeten C57BL/6-Rag2$^{-/-}$ γc$^{-/-}$CD47$^{-/-}$-Mäuse mit Hilfe der BLT-Methode humanisiert. Nach erfolgreicher Rekonstitution wurden die Mäuse mit HIV infiziert und für zehn Tage mit humanem IFNα2 oder IFNα14, das rekombinant im Labor hergestellt und aufgereinigt wurde, behandelt. An Tag elf nach HIV-Infektion wurden die Mäuse getötet und hinsichtlich der Viruslast und Immunantwort untersucht. Die Therapie mit IFNα14 resultierte in einer signifikanten Reduktion der Viruslast, wohingegen eine tägliche Behandlung mit IFNα2 zu keiner signifikanten Inhibition der Virusreplikation führte. Eine vermutete negative Eigenschaft von IFNα während der HIV-Infektion ist deren potentielle Fähigkeit, T-Zellen stark zu aktivieren, was zu einer Verstärkung der HIV-Pathogenese führen könnte. Allerdings wurde in unseren Experimenten mit humanisierten Mäusen eine geringere Hyperimmunaktivierung nach IFNα14-Behandlung festgestellt, verglichen mit IFNα2-behandelten oder unbehandelten Kontrolltieren. Eine signifikante Aktivierung von CD8^{+}-T-Zellen konnte in den IFNα2-behandelten Mäusen gemessen werden, wohingegen IFNα14 signifikant NK-Zellen aktivierte und deren Effektorfunktion verbesserte. Zusätzlich konnte eine gesteigerte Expression von HIV-Restriktionsfaktoren (Mx2, Tetherin) und häufigere APOBEC3G-vermittelte Hypermutation des Provirus in der Milz von IFNα14-stimulierten Mäusen festgestellt werden. Die Möglichkeit von IFNα14, die Viruslast und das provirale Reservoir zu reduzieren gibt Hinweise darauf, dass dieser IFNα-Subtyp ein großes Potential für die Entwicklung neuer Strategien zur Heilung von HIV-Infektionen haben könnte.

Das Projekt im Graduiertenkolleg 1949

Seit 2014 untersuchen wir zusammen mit Professor Ulf Dittmer vom Institut für Virologie die Modulation von retrovirus-spezifischen T-Zellen durch IFNα-Subtypen im DFG-geförderten Graduiertenkolleg 1949. Die Immunmodulation der T-Zellantworten während einer IFNα-Therapie spielt eine entscheidende Rolle bei der Eliminierung einer Virusinfektion. In den ersten drei Jahren des DFG-geförderten Graduiertenkollegs untersuchte die Doktorandin Julia Dickow den Einfluss von murinen IFNα-Subtypen auf die Proliferation und die Effektorfunktion von retrovirus-spezifischen CD8^{+}-T-Zellen. Mit Hilfe eines virus-spezifischen *in vitro* Proliferationsassays hat Julia Dickow den direkten und indirekten Einfluss von IFNα-Subtypen auf Friend-Virus-spezifische CD8^{+}-T-Zellen, als auch antigen-präsentierende DCs untersucht. Sie konnte beobachten, dass virusspezifische CD8^{+}-T-Zellantworten in unterschiedlichem Ausmaß durch einzelne IFNα-Subtypen beeinflusst wurden, wobei die murinen IFNα4, α6 und α9 die stärkste Wirkung auf CD8^{+}-T-Zellen hatten, einschließlich antiproliferativem Effekt, verbesserter Zytokin-



(5) Inhibition der HIV-Replikation durch IFNα-Subtypen in vitro: Die Infektiösität von PBMC-Überständen, die mit dem X4-tropen HIV-1NL4.3_IRES_eGFP in Anwesenheit von unterschiedlichen rekombinanten IFNα Subtypen für 2 Tage inkubiert wurden, wurde mittels TZM-bl-Reporterzellen bestimmt. 5 gesunde Patient*innen wurden jeweils untersucht; die Mittelwerte sind dargestellt als Balken. Die statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der IFN-behandelten Gruppe und der unbehandelten Kontrollgruppe wurden mit Hilfe des one-way ANOVA und Dunnett's posttest analysiert und als * für $p < 0{,}05$, ** für $p < 0{,}01$ und *** für $p < 0{,}001$ angezeigt.
Quelle: Lavender KJ. et al., J Virol., 2016

produktion (IFNγ, TNFα, IL-2) und Zytotoxizität (Granzym B). Dies bedeutet, dass durch die Stimulation mit bestimmten IFNα-Subtypen wenige, sehr potente CD8-T-Effektorzellen generiert werden, die die Infektion effektiv bekämpfen, aber eine überschießende Immunaktivierung mit resultierender Gewebsschädigung verhindert wird. Interessanterweise waren diese verstärkten Zytokinantworten von der IFNα-Subtyp-Stimulation dendritischer Zellen abhängig, während antiproliferative Effekte und Zytotoxizität durch direkte IFNAR-Signalübertragung in $CD8^+$-T-Zellen oder DCs vermittelt wurden. Julia Dickow konnte zudem ähnliche Einflüsse dieser Subtypen (IFNα4, α6, α9) in anderen *in vitro*-Kulturmodellen (Influenza A, Ovalbumin) feststellen. Somit könnte eine gezielte Modulation von virusspezifischen $CD8^+$-T-Zellantworten für spezifische antivirale Immuntherapien durch sorgfältige Auswahl und Verabreichung einzelner bestimmter IFNα-Subtypen möglich sein.

In der aktuellen zweiten Förderperiode analysiert der Doktorand Rouven-Luca Kaiserling den Einfluss von murinen IFNα-Subtypen auf die Differenzierung, Proliferation und die Effektorfunktion von $CD4^+$-T-Zellen. In einem FV-spezifischen $CD4^+$-T-Zell-Proliferationsassay *in vitro* konnte Rouven-Luca Kaiserling bereits zeigen, dass IFNα4, α6, α9 und α11 die Proliferation der $CD4^+$-T-Zellen signifikant reduziert und die Zytokinexpression in diesen Zellen verstärkt. Interessanterweise kommt es nach Stimulation mit murinem IFNα1, α2 und α5 zur erhöhten Expression von IL-17 und IL-22. Rouven-Luca Kaiserling untersucht daher derzeit, inwieweit die verschiedenen IFNα-Subtypen die Differenzierung der T-Zellen in verschiedene T-Helfer-Subpopulationen regulieren. Seine Ergebnisse sollen helfen, die Rolle von verschiedenen IFNα-Subtypen bei der Differenzierung und Aktivierung von $CD4^+$-T-Helferzellen besser zu verstehen und IFN-basierte Immuntherapien bei chronischen Virusinfektionen gezielter und effizienter durchzuführen.

Bislang sind die genauen molekularen Mechanismen fast aller medizinisch wichtigen Anwendungen der Interferone und besonders der verschiedenen Subtypen kaum verstanden. Ein größerer Einblick, wie genau Interferone Virusinfektionen beeinflussen, kann durchaus zur Entwicklung von potenten IFN-basierten Immuntherapien führen, die spezifischer und effektiver in ihrer biologischen Wirkung sind als die bisher zugelassenen IFN-Therapien.

Summary

Type I interferons (IFN), which are immediately induced after most virus infections, are central for direct antiviral immunity and link innate and adaptive immune responses. After induction, they bind to their IFNα/β receptor, which leads to downstream signalling resulting in the expression of numerous different IFN-stimulated genes. These genes encode anti-viral proteins that directly inhibit viral replication and modulate immune function. Thus, the induction of type I IFN is a very powerful tool of the host to fight virus infections. However, several viruses have evolved strategies to evade the IFN response by preventing IFN induction or blocking IFN signalling pathways. Therapeutic application of exogenous type I IFN is thus a significant option for future immunotherapies against chronic viral infections. An important part of the type I IFN family are 12 IFNα subtypes, which all bind to the same receptor but differ significantly in their biological activities. To date, only one IFNα subtype (IFNα2) is being used in clinical treatment against chronic virus infections such as hepatitis B; however, its therapeutic success rate is rather limited. Various clinical studies with human IFNα2 demonstrated no or modest beneficial therapeutic effects during human immunodeficiency virus (HIV) infection. Recent studies by our group addressed the important question of whether other IFNα subtypes would be more potent against retroviral or hepadnaviral infections in *in vitro* and *in vivo* experiments. Indeed, very potent IFNα subtypes were defined and their antiviral and immunomodulatory properties characterized. The findings demonstrate the non-redundant role of the different IFNα subtypes in viral infections, and the characterization of the mechanisms underlying the IFN response might help us to develop novel strategies for future immunotherapies against chronic viral infections.

Literaturangaben

– Antonelli, G., Scagnolari, C., Moschella, F., & Proietti, E. Twenty-five years of type I interferon-based treatment: a critical analysis of its therapeutic use. Cytokine Growth Factor Rev, 2015; 26(2), 121–131.
– Bosinger, S. E., & Utay, N. S. Type I interferon: understanding its role in HIV pathogenesis and therapy. [Review]. Current HIV/AIDS reports, 2015; 12(1), 41–53.
– Feld, J. J., & Hoofnagle, J. H. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. Nature, 2005; 436(7053), 967–972.
– Gerlach, N., Gibbert, K., Alter, C., Nair, S., Zelinskyy, G., James, C. M., et al. Anti-retroviral effects of type I IFN subtypes *in vivo*. Eur J Immunol, 2009; 39(1), 136–146.
– Gibbert, K., & Dittmer, U. Distinct antiviral activities of IFN-alpha subtypes. Immunotherapy, 2011; 3(7), 813–816.
– Gibbert, K., Joedicke, J. J., Meryk, A., Trilling, M., Francois, S., Duppach, J., et al. Interferon-alpha Subtype 11 Activates NK Cells and Enables Control of Retroviral Infection. PLoS pathogens, 2012; 8(8), e1002868.
– Gibbert, K., Schlaak, J., Yang, D., & Dittmer, U. IFN-alpha subtypes: distinct biological activities in anti-viral therapy. British journal of pharmacology, 2013; 168(5), 1048–1058.
– Hardy, M. P., Owczarek, C. M., Jermiin, L. S., Ejdeback, M., & Hertzog, P. J. Characterization of the type I interferon locus and identification of novel genes. Genomics, 2004; 84(2), 331–345.
– Harper, M. S., Guo, K., Gibbert, K., Lee, E. J., Dillon, S. M., Barrett, B. S., et al. Interfe-

ron-alpha Subtypes in an Ex Vivo Model of Acute HIV-1 Infection: Expression, Potency and Effector Mechanisms. PLoS pathogens, 2015; 11(11), e1005254.
– Huang, L. R., Wu, H. L., Chen, P. J., & Chen, D. S. An immunocompetent mouse model for the tolerance of human chronic hepatitis B virus infection. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006; 103(47), 17862–17867.
– Isaacs, A., & Lindenmann, J. Virus interference. I. The interferon. Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci., 1957; 147, 258–267.
– Ivashkiv, L. B., & Donlin, L. T. Regulation of type I interferon responses. Nature reviews. Immunology, 2014; 14(1), 36–49.
– Jaks, E., Gavutis, M., Uze, G., Martal, J., & Piehler, J. Differential receptor subunit affinities of type I interferons govern differential signal activation. J Mol Biol, 2007; 366(2), 525–539.
– Lavender, K. J., Gibbert, K., Peterson, K. E., Van Dis, E., Francois, S., Woods, T., et al. Interferon Alpha Subtype-Specific Suppression of HIV-1 Infection In Vivo. J Virol, 2016; 90(13), 6001–6013.
– Lavender, K. J., Messer, R. J., Race, B., & Hasenkrug, K. J. Production of bone marrow, liver, thymus (BLT) humanized mice on the C57BL/6 Rag2(-/-) gammac(-/-) CD47(-/-) background. J Immunol Methods, 2014; 407, 127–134.
Lavender, K. J., Pace, C., Sutter, K., Messer, R. J., Pouncey, D. L., Cummins, N. W., et al. An advanced BLT-humanized mouse model for extended HIV-1 cure studies. AIDS, 2018; 32(1), 1–10.
– Lavender, K. J., Pang, W. W., Messer, R. J., Duley, A. K., Race, B., Phillips, K., et al. BLT-humanized C57BL/6 Rag2-/-gammac-/-CD47-/- mice are resistant to GVHD and develop B and T cell immunity to HIV infection. Blood, 2013; 122(25):4013–4020.
– Lavoie, T. B., Kalie, E., Crisafulli-Cabatu, S., Abramovich, R., DiGioia, G., Moolchan, K., et al. Binding and activity of all human alpha interferon subtypes. Cytokine, 2011; 56(2), 282-289.
– Li, Y., Sun, B., Esser, S., Jessen, H., Streeck, H., Widera, M., et al. Expression Pattern of Individual IFNA Subtypes in Chronic HIV Infection. J Interferon Cytokine Res, 2017; 37(12), 541–549.
– Moll, H. P., Maier, T., Zommer, A., Lavoie, T., & Brostjan, C. The differential activity of interferon-alpha subtypes is consistent among distinct target genes and cell types. Cytokine, 2011; 53(1), 52–59.
– Platanias, L. C. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. Nat Rev Immunol, 2005; 5(5), 375–386.
– Song, J., Li, S., Zhou, Y., Liu, J., Francois, S., Lu, M., et al. Different antiviral effects of IFNalpha subtypes in a mouse model of HBV infection. Sci Rep, 2017; 7(1), 334.
– Sutter, K., Dickow, J., & Dittmer, U. Interferon alpha subtypes in HIV infection. Cytokine Growth Factor Rev, 2018; 40, 13–18.
– Tomasello, E., Pollet, E., Vu Manh, T. P., Uze, G., & Dalod, M. Harnessing Mechanistic Knowledge on Beneficial Versus Deleterious IFN-I Effects to Design Innovative Immunotherapies Targeting Cytokine Activity to Specific Cell Types. Frontiers in immunology, 2014; 5, 526.
– Wang, B. X., & Fish, E. N. The yin and yang of viruses and interferons. Trends Immunol, 2012; 33(4), 190–197.
– Xu, L., Yang, L., & Liu, W. Distinct evolution process among type I interferon in mammals. Protein Cell, 2013; 4(5), 383–392.
– Zwarthoff, E. C., Mooren, A. T., & Trapman, J. Organization, structure and expression of murine interferon alpha genes. Nucleic Acids Res, 1985; 13(3), 791–804.

Die Autorin

Kathrin Sutter (geb. Gibbert) studierte von 2002 bis 2007 Biochemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main und verfasste ihre Diplomarbeit am Paul-Ehrlich-Institut in Langen. Von 2007 bis 2010 hatte sie ein Stipendium im DFG-Graduiertenkolleg 1045 „Modulation von Wirtszellfunktionen zur Behandlung viraler und bakterieller Infektionen“ in Essen. Sie promovierte 2010 mit Auszeichnung am Institut für Virologie des Universitätsklinikums Essen, wo sie auch anschließend bis 2013 als Postdoc tätig war. Seit 2013 war Kathrin Sutter Nachwuchsgruppenleiterin des SFB/TRR60 „Mutual interaction of chronic viruses with cells of the immune system: from fundamental research to immunotherapy and vaccination“ am Universitätsklinikum Essen. Seit 2018 koordiniert sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin die gemeinsamen Deutsch-Chinesischen Forschungsprojekte des Sino-German Virtual Institute of Viral Immunology (SGVIVI). 2019 habilitierte sie sich und erhielt die Venia legendi für das Fach Virologie der Medizinischen Fakultät.

Wiebke Hansen. Foto: Vladimir Unkovic

Malaria gehört zu den weltweit bedeutendsten Infektionserkrankungen und tritt in etwa 100 Ländern der tropischen und subtropischen Gebiete auf. Schätzungsweise 40 Prozent der Weltbevölkerung lebt in Malaria-endemischen Gebieten, zu denen Länder in Afrika, Asien und Südamerika gehören. Insbesondere Menschen in Afrika sind mit 90 Prozent der Fälle am meisten betroffen. Weltweit werden jährlich mehr als 200 Millionen Menschen infiziert, und etwa 450.000 versterben in Folge der Infektion. Besonders Kinder unter fünf Jahren und schwangere Frauen haben ein erhöhtes Risiko, eine schwere Malaria zu entwickeln.

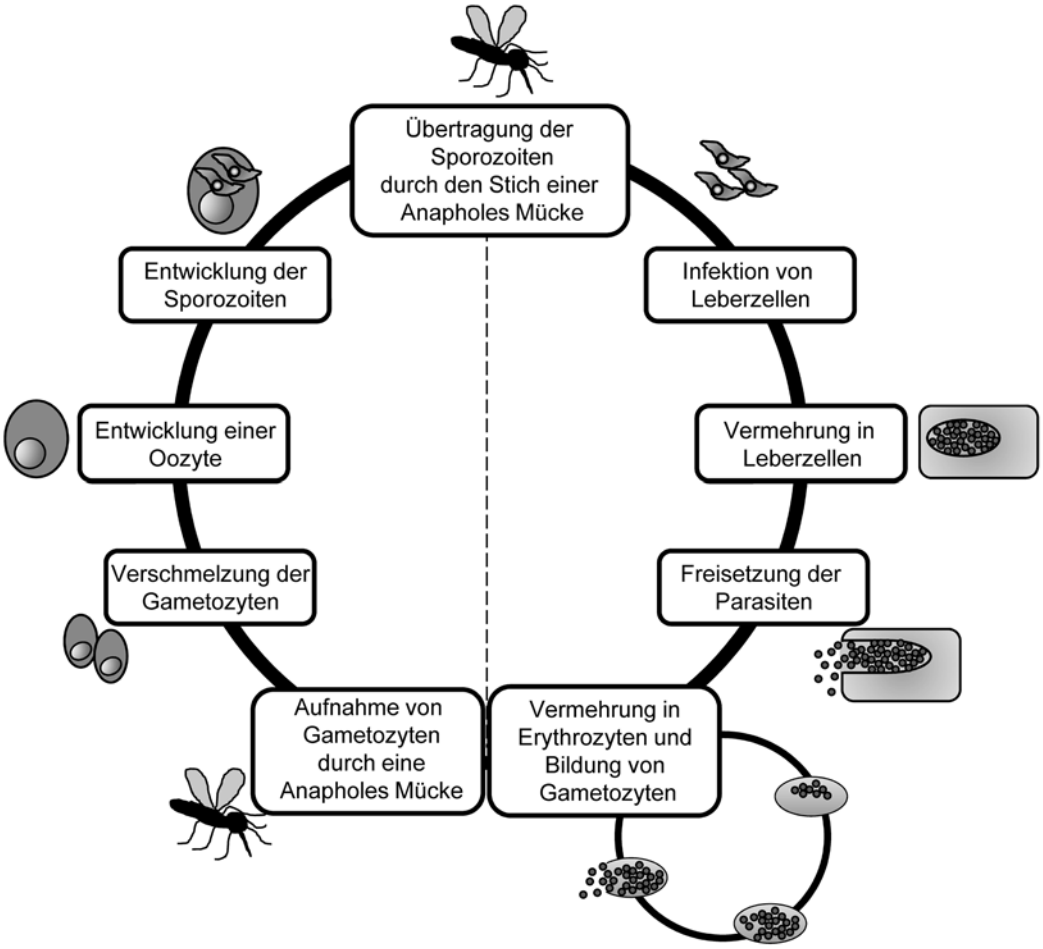
Malaria – quo vadis?

Neue Erkenntnisse zur Therapie, Impfstoffentwicklung und Reaktion unseres Immunsystems

Von Wiebke Hansen

Malaria wird durch die Infektion mit dem einzelligen, eukaryotischen Parasiten der Gattung *Plasmodium* hervorgerufen, der durch den Stich einer infizierten weiblichen Anopheles-Mücke übertragen wird. Bislang sind fünf verschiedene humanpathogene Spezies der Gattung *Plasmodium (P.)* beschrieben, die zu verschiedenen klinischen Verlaufsformen der Malaria führen. *P. vivax und P. ovale* gelten als Auslöser der Malaria tertiana, und *P. malariae* ist verantwortlich für die Malaria quartana, die jeweils einen in der Regel eher milderen Verlauf zeigen als die Malaria tropicana, die durch die Infektion mit *P. falciparum* ausgelöst wird. Bei der Malaria tropicana kommt es zu schweren Organkomplikationen, die ohne entsprechende Behandlung zum Tod führen können. In Südostasien kommt es zudem zu Infektionen mit *P. knowlesi*. Dieser Stamm kommt natürlicherweise bei Affen vor, kann aber auch auf den Menschen übertragen werden.

Der Parasit *Plasmodium* besitzt einen komplexen Lebenszyklus,



(1) Lebenszyklus von *Plasmodium*: Die infektiösen *Plasmodium*-Sporozoiten werden durch den Stich einer weiblichen Anopheles-Mücke auf den Menschen übertragen. Diese wandern von der Haut über den Blutstrom in die Leber und infizieren Leberzellen (Hepatozyten). Dort kommt es zur Vermehrung und Differenzierung der Parasiten in Merozoiten. Im Anschluss platzen die Leberzellen auf und entlassen eine Vielzahl an Merozoiten in den Blutstrom, wo sie die roten Blutkörperchen (Erythrozyten) infizieren und sich über mehrere Zyklen asexuell vermehren. Einige Merozoiten entwickeln sich zu sexuellen Formen, den männlichen und weiblichen Gametozyten. Diese werden bei einem erneuten Stich der Anopheles-Mücke aufgenommen, verschmelzen und entwickeln sich zu Oozyten. Jede Oozyte produziert Tausende von neuen Sporozoiten, die in die Speicheldrüse der Mücke einwandern und von dort bei einem Stich erneut auf den Menschen übertragen werden.
Quelle: modifiziert nach Klein EY, Int J Antimicrob Agents 2013, 41: 311–7

in dessen Verlauf er einen Wirtswechsel von der Anopheles-Mücke zum Menschen durchläuft (Abb. 1). Bei einem Stich einer infizierten weiblichen Anopheles-Mücke werden zehn bis 100 als Sporozoiten bezeichnete Formen der Plasmodien in die Haut des Menschen injiziert. Diese gelangen über den Blutstrom in die Leber, wo sie in die Leberzellen (Hepatozyten) eindringen. Während der sogenannten Leberphase, die ungefähr eine Woche dauert und in der Regel asymptomatisch verläuft, differenzieren die Sporozoiten zu Merozoiten. Dabei können aus einem *Plasmodium*-Sporozoit bis zu 30.000 Merozoiten entstehen. In der Folge platzen die Leberzellen und die Merozoiten gelangen in den Blutstrom, wo sie rote Blutkörperchen (Erythrozyten) infizieren. Die Blutphase beginnt und es kommt zur asexuellen Vermehrung der Parasiten innerhalb der Erythrozyten. Durch Aufplatzen werden die Parasiten entlassen und können neue rote Blutkörperchen infizieren. Dieser Prozess wiederholt sich, so dass es zu einer exponentiellen Vermehrung der Parasiten kommt. Aus einigen Merozoiten entwickeln sich sexuelle Stadien, die männlichen und weiblichen Gametozyten. Diese werden bei einem erneuten Stich von einer Anopheles-Mücke aufgenommen. Im

Mitteldarm der Mücke verschmelzen die Gametozyten und entwickeln sich zu Oozyten, die innerhalb von zwei Wochen tausende von Sporozoiten produzieren. Die Sporozoiten wandern in die Speicheldrüse der Mücke und können somit beim nächsten Stich auf den Menschen übertragen werden. So schließt sich der Lebenszyklus der Parasiten (Abb. 1).

Symptome

Während der Blutphase treten die typischen Symptome der Malaria auf. Durch die Freisetzung der Merozoiten und den Zerfall der Erythrozyten werden Immunzellen angeregt, entzündungsfördernde, lösliche Proteine zu produzieren. Diese Substanzen stimulieren einerseits weitere Immunzellen, lösen aber andererseits auch einen Fieberschub aus, der als klassisches Zeichen der Malaria gilt. Bei der Malaria tertiana und quartana erfolgt das Platzen der roten Blutkörperchen synchron, so dass die Fieberschübe typischerweise rhythmisch in zwei bis drei Tageszyklen auftreten. In dieser Phase treten abwechselnd Schüttelfrost und Fieberschübe bis zu 40° Celsius oder mehr auf. Weitere unspezifische oft als grippeähnlich beschriebene Symptome, die infolge einer Malaria auftreten, sind Abgeschlagenheit, Kopf- und Gliederschmerzen, Durchfall und Übelkeit. Abhängig vom *Plasmodium*-Stamm und dem Ausmaß der Zerstörung roter Blutkörperchen kann es auch zu Anämien (Blutarmut) kommen. Nach einer Infektion mit *P. falciparum*, dem gefährlichsten und häufigsten Erreger der Malaria, kommt es zudem zu Anlagerungen der befallenen roten Blutkörperchen an die Gefäßwände. Diese beruht auf der besonderen Eigenschaft von *P. falciparum*, parasiteneigene Proteine auf der Oberfläche der Zellen zu präsentieren, die an bestimmte Proteine auf den Gefäßwänden binden können. Dadurch kommt es zur Anlagerung der roten Blutkörperchen, und die Parasiten entgehen der Filterfunktion der Milz, so dass die Parasitenzahl im Blut deutlich höher steigt als bei anderen Formen der Malaria. Außerdem kommt es zu Entzündungsreaktionen und zu einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation. Der Blutfluss kann soweit vermindert sein, dass Teile eines Gewebes nicht mehr versorgt werden können und Organschäden auftreten. Dies hat im zentralen Nervensystem besonders dramatische Auswirkungen und die häufigen neurologischen Komplikationen einer *P. falciparum*-Infektion zur Folge. Diese sogenannte zerebrale Malaria endet häufig tödlich.

Behandlung

Zur Behandlung der Malaria werden in der Regel Medikamente eingesetzt, die die Vermehrung und den Stoffwechsel der Parasiten stören und ihn somit „aushungern“ sollen. Allerdings besitzen diese Präparate oft schwere Nebenwirkungen, und die Parasiten entwickeln zunehmend Resistenzen gegenüber den Wirkstoffen. So ist beispielsweise Chloroquin, einst das weltweit am häufigsten verwendete Medikament zur Therapie und Vorbeugung gegen Malaria, heutzutage aufgrund resistenter Plasmodien Stämme zunehmend unwirksam. Bereits in den 1970er Jahren isolierte die chinesische Wissenschaftlerin Youyou Tu einen sekundären Pflanzenstoff, das sogenannte Artemisinin, aus den Blättern und Blüten des Einjährigen Beifußes (*Artemisia annua*). In folgenden Forschungsarbeiten konnte gezeigt werden, dass dieser Stoff eine hohe Wirksamkeit gegenüber Malaria besitzt[1]. Im Jahr 2015 erhielt Youyou Tu für ihre Entdeckung den Nobelpreis für Medizin. Derzeit gelten Artemisinin und seine in den letzten Jahren entwickelten halbsynthetischen Derivate weltweit als die effizientesten Wirkstoffe zur Behandlung einer Malaria. Allerdings sind in den letzten Jahren vor allem in Südostasien Parasiten aufgetaucht, die auch gegen Artemisinin Resistenzen entwickelt haben beziehungsweise wesentlich langsamer auf eine Behandlung ansprechen. Aus diesem Grund empfiehlt die Weltgesundheitsorganisation aktuell zur Behandlung einer Malaria Artemisinin-basierte Kombinationspräparate (ACT = *Artemisinin-based combination therapy*) zu verwenden, um so die Entwicklung von neuen Resistenzen möglichst lange aufzuhalten. Eine wirksame Therapie der Malaria kann allerdings nicht die eigentliche Infektion verhindern und stellt langfristig kein geeignetes Mittel dar, um die Krankheit zu besiegen.

Teilimmunität

Schon Robert Koch beschrieb im Rahmen seiner epidemiologischen Beobachtungen in Malaria-endemischen Gebieten die Entwicklung einer gewissen Immunität gegenüber Malaria, die allerdings nur durch mehrfache Exposition gegenüber dem Erreger erzielt werden kann. Tatsächlich geht man heute davon aus, dass im Rahmen wiederholter überstandener Infektionen der Mensch einen gewissen Immunitätsgrad ausbilden kann, der jedoch durch ständige Neuinfektionen aufrechterhalten werden muss. So verlieren Patient*innen aus endemischen Malaria-Gebieten nach langjährigem Aufenthalt in malariafreien Regionen diesen Schutz. Dies bezeichnet man als Teilimmunität, die gegen die Blutphase des Parasiten gerichtet ist. Dabei ist der Mensch meist nicht vor einer erneuten Infektion geschützt. Allerdings kommt es bei der Reinfektion mit *Plasmodium* zu deutlich abgeschwächten, im besten Fall fehlenden klinischen Symptomen[2].

Auf der Suche nach dem Impfstoff

Eines der großen Ziele der weltweiten Malariaforschung ist es daher, einen wirksamen, präventiven Impfstoff gegen die Krankheit zu

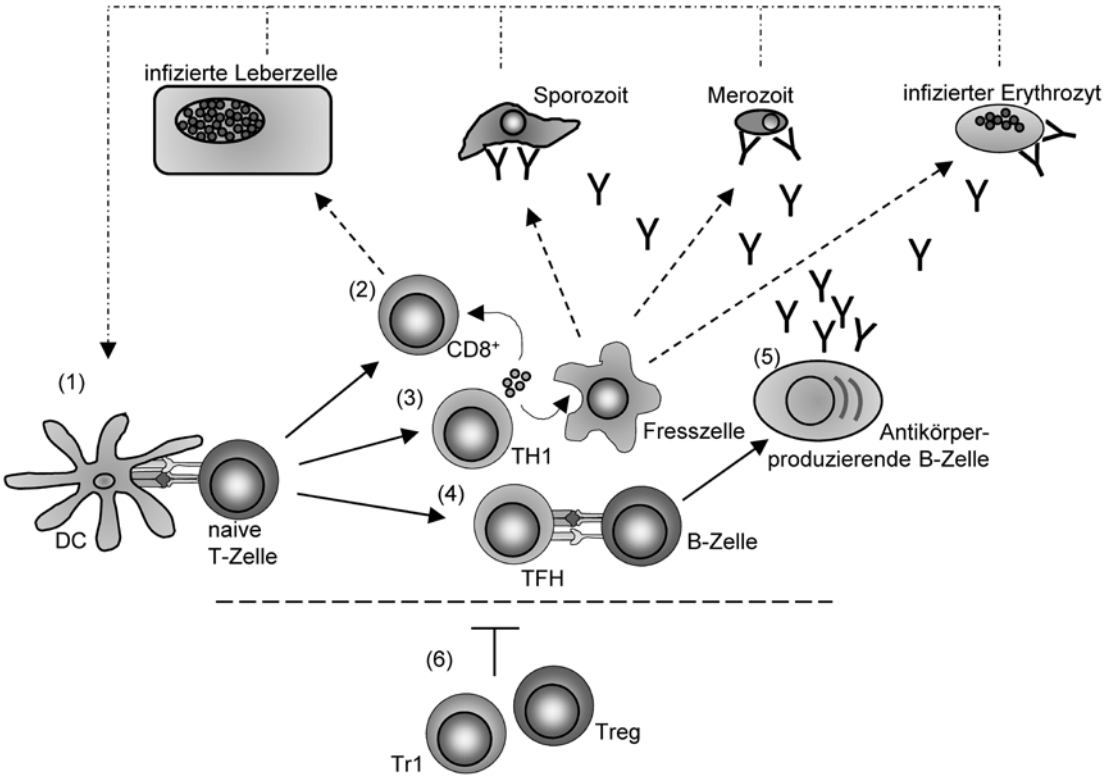
entwickeln. Das Prinzip der Impfung beruht auf dem sogenannten immunologischen Gedächtnis. Kommt der Mensch in Kontakt mit einem Pathogen oder dessen Produkten, die von dem Immunsystem erkannt werden, so kommt es zur Aktivierung der Lymphozyten, einer Untergruppe der weißen Blutkörperchen. Diese Zellen, zu denen die B-Lymphozyten und T-Lymphozyten gehören, besitzen Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, die sehr spezifisch bestimmte Bereiche der Erreger, die Antigene, erkennen. Nach Erstkontakt mit einem Erreger werden die Zellen aktiviert und entwickeln sich zu Effektorzellen. Dies kann bis zu einer Woche dauern. Neben der Differenzierung der Effektorzellen kommt es aber gleichzeitig auch zur Bildung von Gedächtniszellen. Nach Abklingen einer Infektion verbleiben diese im Körper und können bei erneuter Infektion mit dem gleichen Erreger wesentlich schneller und effizienter reagieren, so dass eine Vermehrung des Pathogens verhindert wird. Die Impfung selbst sollte keine Symptome oder Komplikationen auslösen. Daher werden zur Immunisierung abgeschwächte, inaktivierte Formen oder einzelne Moleküle der Pathogene verwendet. Für die Entwicklung eines Malariaimpfstoffes wurden in der Vergangenheit verschiedene Strategien verfolgt, die leider größtenteils mit nur sehr geringem Erfolg verbunden waren. Ursächlich dafür könnten die Komplexität und die Wandelbarkeit des Erregers sein. Zudem ist es vermutlich notwendig, gegen jeden einzelnen der verschiedenen Plasmodien-Stämme eigene Impfstoffe zu entwickeln. Die meisten Forschungsarbeiten haben sich bislang mit der Entwicklung eines Impfstoffes gegen *P. falciparum* beschäftigt, da dieser Stamm für die meisten Todesfälle einer Malaria verantwortlich ist.

Aktuell werden zwei Ansätze intensiv verfolgt, die eine Immunantwort gegen den Parasiten auslösen sollen, bevor er die Blutphase erreicht, also in der präerythrozytären Phase des Entwicklungszyklus' eingreifen. Dadurch können klinische Erkrankungen verhindert werden und die Transmission des Erregers unterbrochen werden. Ein Ansatz erforscht die Verwendung von lebenden oder abgeschwächten Parasiten in Kombination mit einem Anti-Malaria-Medikament. Dabei kann der Parasit in die Leber eindringen, sich vermehren und soll dort eine schützende Immunantwort auslösen. Gleichzeitig verhindert die Gabe eines Anti-Malariamittels die Vermehrung der Parasiten im Blut, so dass eine Erkrankung verhindert wird. Erste Versuche zeigten vielversprechende Ergebnisse. Allerdings wurde der Impfstoff bislang nur an gesunden europäischen Proband*innen ausgetestet. Inwieweit er bei Patient*innen in Malaria-endemischen Gebieten und gegen die heutigen *P. falciparum* Stämme in Afrika effiziente und langanhaltende Wirkung zeigt, soll in den nächsten Jahren im Rahmen einer klinischen Studie in Gabun getestet werden.

Einen anderen Ansatz verfolgt der bislang am weitesten entwickelte Impfstoffkandidat RTS, S (Mosquirix®) der Firma GlaxoSmithKline. Dieser hat die Erprobung in der klinischen Phase III bereits durchlaufen. Hierbei handelt es sich um einen sogenannten Todimpfstoff, da er nicht aus dem gesamten Erreger besteht, sondern nur ein Proteinfragment von *P. falciparum* enthält. Es handelt sich dabei um eine Variante des Circumsporozoit-Proteins (CSP), das auf der Oberfläche der Sporozoiten zu finden ist, wenn der Erreger durch den Mückenstich in die Blutbahn injiziert wird. Zusätzlich wurde es mit einem Teil des Hepatitis B-Virus und einem Adjuvans kombiniert, um eine effektive Immunantwort auszulösen. In einer groß angelegten Studie der letzten Jahre zur Wirksamkeit bei Kindern in Afrika konnte zwar eine gewisse Schutzwirkung erzielt werden, allerdings war nur knapp die Hälfte der Kinder vor einer Infektion geschützt. In einigen Altersgruppen lag der Schutz allerdings noch deutlich darunter und hielt nur wenige Jahre an[3]. In einem großangelegten Pilotprojekt, das im Frühjahr 2019 gestartet ist, will die Weltgesundheitsorganisation die Wirksamkeit und Verträglichkeit in Ghana, Malawi und Kenia bis 2022 weiter testen. Diese Ergebnisse machen deutlich, dass weitere Forschungsaktivitäten vonnöten sind, um die komplexe Immunantwort gegen eine *Plasmodium*-Infektion besser zu verstehen.

Komplexes, wechselwirkendes Immunsystem

Das Immunsystem ist ein komplexes Netzwerk aus verschiedenen zellulären und löslichen Komponenten. Die Zellen des Immunsystems haben ihren Ursprung im Knochenmark; sie stammen von den hämatopoetischen Stammzellen ab. Aus diesen bilden sich sowohl die Zellen des angeborenen als auch des erworbenen Immunsystems. Im Rahmen einer Immunantwort kommt es zunächst zur Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Zu diesem gehören die sogenannten Fresszellen, Makrophagen und neutrophile Granulozyten, die körperfremde, charakteristische Bestandteile von eindringenden Pathogenen unspezifisch erkennen können. Nach Erkennung der Erreger nehmen sie diese ins Zellinnere auf und töten sie ab. Zudem produzieren sie Botenstoffe, die die Aktivität weiterer Immunzellen beeinflussen. So kommt es im weiteren Verlauf einer Immunantwort zu einer Aktivierung des erworbenen Immunsystems, zu dem die B-Lymphozyten und T-Lymphozyten gehören. Diese tragen hochspezifische Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, die einzelne Bestandteile der Erreger erkennen. Dabei besitzt jeder Lymphozyt nur Rezeptoren einer einzigen Spezifität, wobei die Spezifitäten der einzelnen Rezeptoren sich voneinander unterscheiden, so dass die zahlreichen Lymphozyten unseres Körpers Millionen verschiedener Antigene erkennen können. Kommt unser Körper in



(2) Immunantwort gegen eine *Plasmodium*-Infektion: (1) Dendritische Zellen (DCs) nehmen Trümmer von infizierten Leberzellen und Erythrozyten sowie Sporozoiten und Merozoiten auf und präsentieren den T-Zellen Fragmente der Proteine (Antigene) über MHC-Komplexe. In Anwesenheit von zusätzlichen ko-stimulatorischen Signalen und entsprechenden löslichen Botenstoffen, werden die naiven T-Zellen aktiviert und differenzieren zu Effektor-T-Zellen mit verschiedenen Funktionen. (2) $CD8^+$-zytotoxische T-Zellen erkennen infizierte Leberzellen und töten diese ab. (3) $CD4^+$-T-Helferzellen 1 (TH1) produzieren entzündungsfördernde Botenstoffe, die die Aktivität von $CD8^+$-T-Zellen und Fresszellen erhöhen. (4) $CD4^+$-follikuläre T-Helferzellen (TFH) interagieren mit B-Zellen und fördern so die effiziente Bildung von (5) parasitenspezifischen Antikörperantworten, die gegen Sporozoiten, Merozoiten und infizierte rote Blutkörperchen (Erythrozyten) gerichtet sind. (6) Die Aktivität von $CD4^+$-T-Zellen, $CD8^+$-T-Zellen und B-Zellen wird von regulatorischen T-Zellen (Treg) und T-regulatorischen Zellen Typ I (Tr1) kontrolliert.
Quelle: modifiziert nach Kurup SP et al., Nat Reviews Immunol 2019, 19: 457–71

Kontakt mit einem fremden Antigen, also einem Bestandteil eines Erregers, so werden die Zellen, dessen Rezeptoren dieses Antigen spezifisch erkennen, aktiviert und zur Proliferation (Vermehrung) angeregt. Da die Bildung einer ausreichenden Zahl an aktivierten, spezifischen Zellen einige Zeit in Anspruch nimmt, reagiert das erworbene Immunsystem verzögert auf eine Infektion. Allerdings werden, wie bereits oben beschrieben, auch sogenannte Gedächtniszellen ausgebildet, die bei einem zweiten Kontakt mit dem gleichen Erreger schneller und effizienter agieren können.

Hauptaufgabe der B-Lymphozyten ist die Produktion von Antikörpern. Diese stellen die lösliche Form der B-Lymphozyten-Rezeptoren dar und sind daher gegen spezifische Antigene der Pathogene gerichtet. Antikörper binden an bestimmte Bereiche der Erreger oder deren toxische Produkte, und können somit das Eindringen in Zielzellen verhindern beziehungsweise Toxine neutralisieren. Eine weitere wichtige Funktion ist die Markierung von Pathogenen, so dass diese überhaupt oder besser von den Fresszellen erkannt werden. Hier wird deutlich, dass die zellulären und löslichen Bestandteile des angeborenen und erworbenen Immunsystems eng miteinander kooperieren, um den Körper bestmöglich gegen Angriffe von Pathogenen zu schützen. Diese gegenseitige Wechselwirkung ist auch bei der Aktivierung von T-Lymphozyten von entscheidender

Bedeutung. Während die Rezeptoren der B-Lymphozyten freie Antigene binden und somit hauptsächlich bei der Abwehr extrazellulärer Pathogene, meist Bakterien oder Parasiten, wichtig sind, können die Rezeptoren der T-Lymphozyten Antigene nur in Komplexen mit MHC (*major histocompatibility complex*)-Molekülen erkennen. Nach dem Eindringen von Pathogenen werden diese im Gewebe unter anderem von dendritischen Zellen (DCs), die dem angeborenen Immunsystem zuzuordnen sind, aufgenommen. Dies führt zur Reifung der DCs und zu ihrer Einwanderung in den nächstgelegenen, sogenannten drainierenden Lymphknoten. Die DCs prozessieren die Bestandteile der Erreger in kürzere Fragmente, die auf MHC-Moleküle geladen und an die Zelloberfläche transportiert werden. In den Lymphknoten kommt es dann zum Kontakt zwischen den Antigen-beladenen DCs und den T-Lymphozyten. Erkennen die Rezeptoren der T-Lymphozyten den von der reifen DC präsentierten MHC-Antigen-Komplex, so kommt es in Gegenwart von zusätzlichen ko-stimulatorischen Signalen und Botenstoffen zur initialen Aktivierung und Proliferation der T-Lymphozyten.

Zur Gruppe der T-Lymphozyten gehören $CD8^+$-zytotoxische T-Zellen und $CD4^+$-T-Helferzellen. Zytotoxische $CD8^+$-T-Zellen erkennen MHC-I-Antigen-Komplexe. Nach ihrer initialen Aktivierung durch DCs sind sie in der Lage, infizierte Zellen zu erkennen und abzutöten. Fast alle körpereigenen Zellen, mit Ausnahme der roten Blutkörperchen, haben MHC-I-Moleküle auf ihrer Oberfläche. Nach Infektion sind sie ebenso wie DCs in der Lage, kurze Bestandteile der Erreger, die Antigene, auf MHC-I-Proteine zu laden und an die Zelloberfläche zu transportieren. Diese Komplexe werden von den zytotoxischen $CD8^+$-T-Zellen erkannt, was im Idealfall zum Abtöten der infizierten Zelle führt. Allerdings sei hier angemerkt, dass viele Pathogene Mechanismen entwickelt haben, dieser Erkennung zu entgehen bzw. die Aktivität der $CD8^+$-T-Zellen zu reduzieren. Insgesamt spielen $CD8^+$-T-Zellen jedoch eine wichtige Rolle bei der Abwehr intrazellulärer Erreger.

$CD4^+$-T-Helferlymphozyten (TH-Zellen) erkennen MHC-II-Antigen-Komplexe. Im Gegensatz zu MHC-I besitzen nur bestimmte Zellen im Körper MHC-II. Dies sind im Wesentlichen DCs, Makrophagen und B-Lymphozyten. Hinsichtlich ihrer Funktion ist dies auch durchaus sinnvoll. Während ihrer Aktivierung durch DCs entwickeln sich $CD4^+$-T-Lymphozyten je nach vorliegenden Botenstoffen zu verschieden TH-Subtypen. Die Hauptaufgabe von TH1-Zellen ist die Aktivierung von Makrophagen, so dass diese in ihrer Fähigkeit, aufgenommene Pathogene abzutöten, verstärkt werden. TH2-Zellen hingegen sind wichtig für die Aktivierung der meisten B-Lymphozyten, und somit für die Antikörperproduktion. Auch die sogenannten $CD4^+$-follikulären Helferzellen (TFH) spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von effizienten Antikörperantworten. Somit sind $CD4^+$-TH-Zellen sowohl an der effizienten Abwehr intrazellulärer Pathogene durch Makrophagen als auch extrazellulärer Erreger durch antikörperproduzierende B-Lymphozyten beteiligt.

Neben den $CD4^+$-TH-Zellen, die durch ihre Funktion die Immunantwort verstärken, existieren aber auch $CD4^+$-regulatorische T-Zellen (Treg-Zellen). Diese haben die Aufgabe, das Immunsystem zu kontrollieren und überschießende Immunreaktionen zu verhindern. Dabei gibt es neben t-Treg-Zellen (*thymus-derived Treg cells*), die bereits während der Reifung der T-Lymphozyten im Thymus gebildet werden, noch weitere Untergruppen der Treg-Zellen wie p-Treg-Zellen (*peripheral Treg cells*) und Tr1-Zellen (*T regulatory 1 cells*), die ihre Funktion nach Antigen-MHC-II-Kontakt in Abhängigkeit von bestimmten Botenstoffen ausbilden.

Modelle für die Forschung

Für die Erforschung der Immunantwort während der Malaria stehen mehrere Modelle zur Verfügung, um die Infektion in der Maus nachzustellen. Dies ist von entscheidender Bedeutung für die biomedizinische Forschung, da aus offensichtlichen Gründen die Entnahme von Organen wie Lymphknoten, Milz, Leber und Gehirn von erkrankten Menschen zu Forschungszwecken ethisch nicht vertretbar ist. Zwar liefern Untersuchungen des Blutes von Malaria-Patient*innen wichtige Hinweise auf den Verlauf und die Immunreaktion beim Menschen, allerdings können gewebespezifische Antworten und wichtige zugrundeliegende Mechanismen nicht geklärt werden. Daher ist es wichtig, geeignete Modelle zu entwickeln, in denen die Immunantwort analysiert werden kann und zugleich Moleküle und Immunzellen gezielt verändert oder auch entfernt werden können, um deren Funktion und Einfluss auf den Infektionsverlauf zu identifizieren. Diese Untersuchungen tragen maßgeblich dazu bei, die Reaktion des Immunsystems bei einer Malaria zu verstehen und bilden somit die Grundlage für die Entwicklung neuer Impfstrategien und therapeutischer Ansätze. Am häufigsten werden dazu zwei *Plasmodium*-Stämme verwendet, die Nagetiere infizieren können, *P. yoelii* und *P. berghei*. Die Infektion von Mäusen mit *P. yoelii* NXL führt dabei zu einem milden Verlauf der Krankheit. Die Tiere sind in der Lage, die Ausbreitung der Parasiten zu kontrollieren und letztendlich zu beseitigen. Dieses Modell wird weltweit in der Regel für Untersuchungen der Immunantwort während der Blutphase verwendet. Im Gegensatz dazu löst die Infektion von Mäusen mit *P. berghei* ANKA einen schweren Verlauf aus. Die Tiere erliegen der Infektion aufgrund der Entstehung einer zerebralen Malaria, die auch bei schweren Verläufen nach Infektion mit *P. falciparum* beim Menschen beobachtet werden kann.

Aus bisherigen Studien weiß man, dass sowohl T-Lymphozyten als auch Antikörper, die von den B-Lymphozyten produziert werden, essentiell für die Kontrolle der Parasiten-Vermehrung und Schwere der Malaria sind. Untersuchungen an infizierten Mäusen und teilimmunen Patient*innen deuten darauf hin, dass zytotoxische CD8$^+$-T-Lymphozyten parasitenspezifische Antigen-MHC-I-Komplexe auf infizierten Leberzellen erkennen und abtöten, wohingegen CD4$^+$-TH-abhängige Antikörperantworten die Einwanderung der Sporozoiten in die Leber behindern. Somit verhindern beide Mechanismen die Progression von einer asymptomatischen zu einer klinischen Malaria. Während der Blutphase der *Plasmodium*-Infektion befinden sich die Parasiten in den Erythrozyten. Diese tragen größtenteils kein funktionelles MHC-I auf ihrer Oberfläche und sind somit vor der Erkennung durch CD8$^+$-zytotoxische T-Lymphozyten geschützt. Man geht heute davon aus, dass CD4$^+$-TH-Lymphozyten die Produktion von löslichen Antikörpern sowie die anti-parasitäre Aktivität von Fresszellen unterstützen und somit indirekt an der Kontrolle der Parasitenausbreitung während der Blutphase beteiligt sind. Allerdings sind diese und weitere bereits identifizierte Immunmechanismen wesentlich komplexer und scheinbar nicht ausreichend, um die Entstehung einer Malaria zu verhindern und einen effizienten, langjährigen Schutz vor einer erneuten Infektion zu gewährleisten[4].

Die Immunantwort ist entscheidend

Eine effektive Immunantwort ist essentiell, um die Parasiten nach einer Infektion mit *Plasmodium* zu eliminieren und den Menschen vor einer erneuten Infektion zu schützen. Gleichzeitig müssen diese Immunreaktionen jedoch sehr genau kontrolliert werden, um die Entstehung von Gewebeschäden aufgrund überschießender Immunantworten zu verhindern. Während einer Malaria werden verschiedene ko-stimulatorische, ko-inhibitorische und auch immunregulatorische Mechanismen aktiviert, die die Funktion von Parasiten-spezifischen Immunantworten beeinflussen. So konnten wir und andere zeigen, dass es nach einer Infektion mit *P. yoelii* zu einer deutlichen Erhöhung der regulatorischen T-Zellen (Treg) kommt, die darüber hinaus eine erhöhte immunsuppressive Aktivität aufweisen[5]. Weiterführende Untersuchungen ergaben, dass dieser Erhöhung vermutlich die Expansion von bereits vorliegenden Treg-Zellen (t-Treg-Zellen) in Folge der Infektion zugrunde liegt[6]. Die gezielte Depletion dieser Treg-Zellen führte zu einer deutlich verstärkten Aktivierung der CD4$^+$- und CD8$^+$-T-Lymphozyten, einhergehend mit einer verminderten Ausbreitung der Parasiten[5]. Eine verbesserte Kontrolle der *P. yoelii*-Infektion konnte auch durch eine genetische Veränderung, die einen reduzierten Anteil an Treg-Zellen und eine erhöhte Aktivierung von T-Lymphozyten zur Folge hat, erzielt werden[7]. Auch bei Patient*innen aus Malaria-endemischen Gebieten konnte eine Expansion von Treg-Zellen während der Blutphase nachgewiesen werden. Dabei korrelierten die Frequenzen an Treg-Zellen mit der Ausbreitung der Parasiten im Blut[8].

Die ethnische Gruppe der Fulani aus Westafrika ist natürlicherweise weniger anfällig für Malaria als andere ethnische Gruppen, die in den gleichen Gebieten leben. Dies zeigt sich in einer geringeren Infektionsrate, weniger Symptomen und einer niedrigeren Ausbreitung der Parasiten im Blut. Interessanterweise ergaben Studien, dass neben anderen Veränderungen auch die Funktionalität der Treg-Zellen bei den Fulani vermindert ist. Insgesamt deuten diese Studien darauf hin, dass während einer Malaria Treg-Zellen expandieren und eine effiziente Immunantwort gegen den Parasiten unterdrücken können. Tatsächlich konnte kürzlich im Tiermodell gezeigt werden, dass die spezifische Depletion der Treg-Zellen im Rahmen einer Impfstrategie eine verstärkte Aktivierung von Parasiten-spezifischen CD8$^+$-T-Zellen zur Folge hatte. Allerdings führte dies nicht zu einer Erhöhung der Gedächtniszellen, die für einen langanhaltenden Schutz wichtig sind.

Neben den t-Treg-Zellen existieren, wie bereits beschrieben, noch weitere CD4$^+$-T-Lymphozyten, die immunsuppressives Potential besitzen und scheinbar ebenfalls eine wichtige Rolle während der Malaria spielen. Wir und andere konnten nachweisen, dass die Infektion mit *P. yoelii* zu einer erhöhten Produktion des immunsuppressiven Botenstoffs Interleukin (IL)-10 der CD4$^+$-T-Lymphozyten während der Blutphase führt[5]. CD4$^+$-T-Lymphoyzten, die vermehrt IL-10 produzieren und immunregulatorische Eigenschaften besitzen, werden als Tr1-Zellen beschrieben. Im Rahmen von Infektionen sind sie in der Lage, die Entstehung von Immunpathologien zu verhindern, dabei jedoch auch eine effektive Immunantwort zu unterdrücken, so vermutlich auch während der Malaria. Eine Forschungsarbeit aus Gambia zeigte, dass Kinder, die milde Symptome der Malaria aufweisen, einen erhöhten Anteil an IL-10 produzierenden CD4$^+$-T-Lymphozyten besitzen im Vergleich zu Kindern, die an einem klinisch schweren Verlauf der Infektion leiden. Weitere Studien an Blutproben von Malaria-Patient*innen deuten darauf hin, dass während einer *P. falciparum*-Infektion der Anteil an IL-10 produzierenden CD4$^+$-Tr1-Zellen mit einer erhöhten Ausbreitung der Parasiten und gleichzeitig mit einem verminderten Risiko, an einer schweren Malaria zu erkranken, verbunden ist. Neben CD4$^+$-T-Lymphozyten sind auch andere Immunzellen in der Lage, IL-10 zu sezernieren. Tatsächlich konnten wir nachweisen, dass während der *P. yoelii*-Infektion auch

DCs eine erhöhte IL-10-Produktion aufweisen[9]. Wie bereits beschrieben, werden T-Lymphozyten durch Erkennen von MHC-Antigen-Komplexen auf DCs, in Gegenwart von zusätzlichen ko-stimulatorischen Signalen initial aktiviert und zur Proliferation angeregt. Wir konnten in diesem Zusammenhang zeigen, dass das Fehlen der DCs während der frühen Phase der *P. yoelii*-Infektion zu einer deutlich verminderten Aktivität der T-Lymphozyten führt[10]. Während ihrer Aktivierung durch DCs entwickeln $CD4^+$-T-Lymphozyten je nach vorliegenden Botenstoffen unterschiedliche Funktionen. Unsere Arbeiten deuten darauf hin, dass tatsächlich IL-10 produzierende DCs an der erhöhten Bildung IL-10 produzierender $CD4^+$-T-Lymphozyten mit immunsuppressivem Potential im Verlauf der *Plasmodium*-Infektion beteiligt sind[9]. Welche anderen Zellen und Mechanismen den erhöhten Anteil an immunsuppressiven Zellen und Botenstoffen während der Malaria beeinflussen, und wie diese Zellen ihre Funktion genau ausüben, ist allerdings bislang noch nicht vollständig geklärt.

Fazit

Zusammenfassend konnten durch die weltweiten Anstrengungen im Bereich der Forschung bereits wichtige Mechanismen der Immunantwort gegen den Parasiten *Plasmodium* identifiziert werden. Trotzdem gibt es noch eine Reihe ungeklärter Fragen, die in den nächsten Jahren beantwortet werden müssen, um eine effiziente Impfstrategie oder immuntherapeutische Ansätze zur Vermeidung respektive Therapie der Malaria zu entwickeln.

Summary

Malaria is still one of the most life-threatening infectious diseases worldwide. Each year, more than 200 million people are infected and nearly half a million people, in particular children under five years of age, die from the infection. *Plasmodium* species are the causative agents of malaria. These parasites are transmitted by the bite of infected Anopheles mosquitoes and have a complex life cycle in humans and mosquitoes. Several effective drugs exist for the treatment of malaria, including artemisinin-based combination therapies, but more and more drug-resistant parasites have emerged. Different vaccination strategies have been developed, but most have failed. RTS,S was the only vaccine tested in phase III clinical trials. Despite initial promising results, RTS,S provides only short-lived, partial protection against malaria. To date, it is well established that T-lymphocytes and antibody responses play a crucial role during immune responses against *Plasmodium*. However, there are still many fundamental questions as to how our immune system reacts and how it is controlled during malaria. A better understanding of the mechanistic processes of the immunology should help in the development of more practical and reliable immunization and therapeutic interventions to control or eliminate malaria.

Anmerkungen/Literatur

1) Tu, Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from chinese medicine. Nat Med 17; 2011: 1217–20.
2) Tran, T.M., Li, S., Doumbo, S., Doumtbe, D., Huang, C.Y., Dia, S., Bathily, A., Sangala, J., Kone, Y., Traore, A., Niangaly, M., Dara, C., Kayentao, K., Ongoiba, A., Doumba, O.K., Traora, B. and Crompton, P.D. An intensive longitudinal cohort study of Malian children and adults reveals no evidence of acquired immunity to *Plasmodium* falciparum infection. Clin Infect Dis 57; 2013: 40–7.
3) RTS,S Clinical Trails Partnership. Efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomized controlled trail. Lancet 386; 2015: 31–45.
4) Kurup, S.P., Butler, N.S. and Harty, J.T. T cell-mediated immunity to malaria. Nat Rev Immunol 19; 2019: 457–471.
5) Abel, S., Lückheide, N., Westendorf, A.M., Geffers, R., Roers, A., Mueller, W., Sparwasser, T., Matuschewski, K., Buer, J. and Hansen, W. Strong impact of $CD4^+Foxp3^+$ regulatory T cells and limited effect of T cell-derived IL-10 on pathogen clearance during *Plasmodium* yoelii infection. J. Immunol 188; 2012: 5467–77.
6) Abel, S., Ueffing, K., Tatura, R., Hutzler, M., Hose, M., Matuschewski, K., Kehrmann, J., Westendorf, A.M., Buer, J. and Hansen, W. *Plasmodium* yoelii infection of BALB/c mice results in expansion rather than induction of $CD4^+$Foxp3+ regulatory T cells. Immunology 148; 2016: 197–205.
7) Hose, M., Günther, A., Abberger, H., Begum, S., Korencak, M., Becker, K.A., Buer, J., Westendorf, A.M., and Hansen, W. T cell-specific overexpression of acid sphingomyelinase results in elevated T cell activation and reduced parasite burden during *Plasmodium* yoelii infection. Front Immunol 10; 2019: 1225.
8) Walther, M., Tongren, J.E., Andrews, L., Korbel, D., King, E., Fletcher, H., Andersen, R.E., Bejon, P., Thompsen, F., Dunachie, S.J., Edele, F., de Souza, J.B., Sinden, R.E., Gilbert, S.C., Riley, E.M. and Hill, A.V. Upregulation of TGF-beta, FOXP3, and $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells correlates with more rapid parasite growth in human malaria infection. Immunity 23; 2005: 287–96.
9) Loevenich, K., Ueffing, K., Abel, S., Hose, M., Matuschewski, K., Westendorf, A.M., Buer, J. and Hansen W. DC-derived IL-10 interferes with pro-inflammatory cytokine production and promotes induction of $CD4^+$IL-10^+ regulatory T cells during *Plasmodium* yoelii infection. Front Immunol 8; 2017: 152.
10) Ueffing, K., Abberger, H., Westendorf, A.M., Matuschewski, K., Buer, J. and Hansen, W. Conventional CD11chigh dendritic cells are essential for T cell priming during the initial phase of *plasmodium* yoelii infection, but are dispensable at later time points. Front Immunol 8; 2017: 1333.

Die Autorin

Wiebke Hansen studierte von 1991 bis 1996 Biologie an der Technischen Universität Braunschweig. Von 1997 bis 2000 verfasste sie ihre Doktorarbeit an der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (heute Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung) in Braunschweig. In den folgenden sieben Jahren arbeitete sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Buer am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig, bevor sie gemeinsam mit ihm an das Universitätsklinikum Essen wechselte und die Leitung der Arbeitsgruppe „Immunregulation“ übernahm. Es folgten die Habilitation und der Erhalt der venia legendi für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie an der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen im Jahr 2010. 2012 erhielt sie für ihre Forschungsarbeiten den internationalen Young Investigator Award des Journals of Immunology. Seit 2013 ist Wiebke Hansen berufene Professorin für Molekulare Infektionsimmunologie am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Fakultät an der Universität Duisburg-Essen.

Jörg Timm. Foto: Vladimir Unkovic

Die in diesem Beitrag beschriebene immunologische Grundlagenforschung möchte dazu beitragen, ein besseres Verständnis der HCV-Infektion zu erlangen und die komplexen Mechanismen aufzuklären, die bei einigen Menschen zu einer spontanen Ausheilung einer HCV-Infektion führen beziehungsweise Individuen vor einer Infektion schützen. Ein besseres Verständnis der Rolle des angeborenen und erworbenen Immunsystems für den HCV-Infektionsverlauf könnte für die Entwicklung einer prophylaktischen Impfung helfen.

Erfolg durch körpereigene „Krieger*innen“

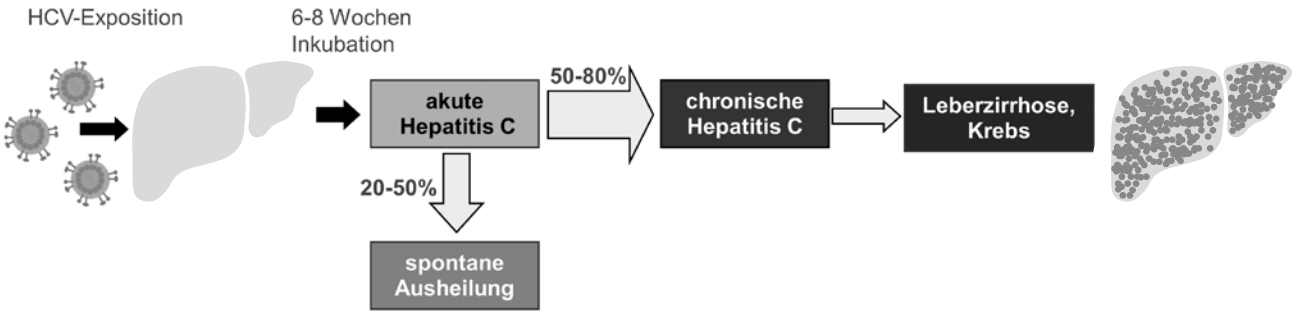
Natürliche Killerzellen im Kampf gegen eine Hepatitis-C-Virus-Infektion

Von Tina Senff & Jörg Timm

Nach Schätzungen der World Health Organisation (WHO) sind aktuell weltweit ein Prozent aller Menschen chronisch mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV) infiziert, das entspricht 71 Millionen Menschen. Schätzungsweise infizieren sich jährlich etwa 1.750.000 Menschen neu mit HCV. Nach WHO-Angaben sind die Regionen mit der höchsten Prävalenz für HCV die östliche Mittelmeerregion und Teile der Region Europa. Dabei wird die hohe Prävalenz in der östlichen Mittelmeerregion (2,3 %) vor allem nosokomialen Infektionen in der Vergangenheit zugeschrieben. Das bedeutet, dass die Infektion durch eine medizinische Maßnahme verursacht wurde. Dagegen ist der Großteil der Infektionen in der Region Europa auf intravenösen Drogenkonsum zurückzuführen[1].

HCV wird vor allem durch Blutkontakte übertragen. Bevor Anfang der 1990er Jahre zunächst serologische und später molekulare Tests zum Ausschluss von HCV-Infektionen bei Blutspender*innen eingeführt wurden, stellten Transfusionen von Blutprodukten den wichtigsten Risikofaktor für eine Hepatitis C dar. Seit der Einführung der generellen Spender*innentestung sind in Deutschland HCV-Übertragungen durch die Gabe von Blutprodukten äußerst selten und wurden in den letzten Jahren nicht mehr beschrieben. Heutzutage ist der häufigste Grund für eine Übertragung die Benutzung von nicht sterilisiertem, unsauberem Injektionsbesteck bei intravenösem Drogengebrauch und dem oft einhergehenden Teilen des Injektionsequipments. Die Übertragung des Virus von einer infizierten Mutter auf ihr Neugeborenes und die sexuelle Transmission sind hingegen eher seltene Ereignisse, obwohl es in den letzten Jahren zu einer Zunahme der HCV-Inzidenz in Gruppen der HIV-positiven „Men having Sex with Men (MSM)“, am ehesten durch sexuelle Praktiken, die Blutkontakte ermöglichen, kam.

HCV kann sowohl eine akute als auch eine chronische Infektion auslösen. Die Mehrheit der Individuen, die akut mit HCV infiziert ist, entwickelt eine chronische Infektion (50–80 %), definiert als anhaltende Virusreplikation in der Leber für mehr als sechs Monate. Dagegen



(1) HCV-Infektionsverlauf: Sechs bis acht Wochen nach der Exposition mit HCV können Antikörper gegen HCV im peripheren Blut der Patient*innen detektiert werden. 20 bis 50 % der akut HCV-infizierten Patient*innen erfahren eine spontane Ausheilung des Virus, während 50 bis 80 % der Infektionen einen chronischen Verlauf nehmen. Als Spätfolge einer chronischen Infektion entwickeln etwa 20 % der Patient*innen eine Leberzirrhose, die wiederum mit einem erhöhten Risiko an einem Leberkarzinom zu erkranken, assoziiert ist.
Quelle: eigene Darstellung

erreichen nur 20 bis 50 Prozent eine spontane Ausheilung der Virusinfektion, so dass diese Patient*innen keine weitere Therapie benötigen. Die Inkubationszeit von HCV beträgt zwischen zwei Wochen bis zu sechs Monaten. Nach der Infektion zeigen etwa ein Fünftel aller infizierten Patient*innen Symptome wie zum Beispiel Fieber, Übelkeit, Appetitlosigkeit oder Gelbsucht, während der Großteil der akuten Infektionen asymptomatisch verläuft. Die chronische Infektion kann schwere Lebererkrankungen wie Leberfibrose, Leberzirrhose und ein hepatozelluläres Karzinom verursachen. Etwa 5 bis 20 Prozent der chronisch mit HCV-Infizierten entwickeln eine Leberzirrhose, und diese Patient*innen haben ein hohes Risiko im weiteren Krankheitsverlauf an einem Leberzellkarzinom zu erkranken. An den Folgen der HCV-Infektion sterben nach Schätzungen der WHO jährlich ungefähr 400.000 Menschen. Da die akute HCV-Infektion in den meisten Individuen asymptomatisch oder mit nur milden, unspezifischen Symptomen verläuft, werden die meisten Infektionen nicht in der akuten Phase diagnostiziert. Auch die chronische Infektion wird oft erst spät erkannt, so dass das konsequente Screening von Risikogruppen auf eine HCV-Infektion aus epidemiologischer Sicht extrem wichtig ist[1].

Für die Diagnostik der Hepatitis C wird ein zweistufiges Screening angewendet. Zunächst wird ein HCV-Antikörpertest durchgeführt. Dieser Test gibt an, ob ein Individuum bereits Kontakt mit dem Virus hatte. Bei einem reaktiven Ergebnis schließt sich ein Test zum Nachweis von HCV-RNA an. Mit diesem Test kann die virale Nukleinsäure quantifiziert werden, und bei einem positiven Ergebnis ist eine replikative HCV-Infektion nachgewiesen. Mit der Kombination dieser beiden Testverfahren lässt sich differenzieren, ob der*die Patient*in eine abgelaufene oder eine replikative HCV-Infektion hat. Individuen mit einem positiven HCV-Antikörpertest und negativen HCV-RNA-Test haben das Virus spontan ausgeheilt oder wurden erfolgreich therapiert. Individuen, die sowohl Anti-HCV als auch HCV-RNA positiv sind, haben derzeitig eine HCV-Infektion. In der erweiterten Diagnostik kann eine HCV-Genotypisierung ergänzt werden, die für die Therapieplanung von Bedeutung ist. Es werden insgesamt sieben HCV-Genotypen unterschieden, von denen die Genotypen 1 und 3 in Deutschland am häufigsten sind.

Aufgrund der hohen Fehlerrate bei der Virusreplikation weist HCV eine hohe genetische Variabilität auf. Neben den Virussequenzunterschieden zwischen Genotypen und Subtypen gibt es erhebliche Sequenzunterschiede zwischen einzelnen Isolaten des gleichen Subtyps. Selbst in einem*r Patient*in werden im Rahmen der Virusreplikation zahlreiche Varianten produziert, die zwar alle eng miteinander verwandt sind, aber doch Unterschiede aufweisen. Man bezeichnet diesen Schwarm von ähnlichen, aber verschiedenen Varianten als Quasispezies. Die Quasispeziesnatur des Virus ermöglicht schnelle Anpassungen an Änderungen des Replikationsumfelds, indem Varianten mit einer erhöhten Fitness aus dem Pool der Varianten selektiert werden. Dadurch kann sich HCV sehr schnell nach Übertragung auf eine*n neue*n Patient*in an das Immunsystem anpassen und persistieren.

Eine HCV-Infektion kann mit antiviralen Medikamenten erfolgreich behandelt werden. Ziel einer Therapie ist eine so genannte anhaltende Therapieantwort („sustained viral response“, SVR), definiert als fehlender Nachweis von HCV-RNA im Serum zwölf Wochen nach abgeschlossener Therapie. Da es kein Virusreservoir in der Zelle gibt, kommen spätere Reaktivierungen der Virusinfektion praktisch nicht vor. Lange Zeit basierte die Standardtherapie einer Hepatitis C auf Interferon alpha in Kombination mit

Ribavirin. Diese Therapie war mit starken Nebenwirkungen assoziiert und erreichte bei dem häufigsten HCV-Genotyp in nur etwa 40 bis 50 Prozent der Patient*innen eine anhaltende Therapieantwort. In den letzten Jahren wurden multiple antivirale Substanzen zur Behandlung der chronischen HCV-Infektion zugelassen, die zu einer sehr hohen Heilungsrate im Vergleich zur interferon-basierten Therapie führen. Die wichtigsten Ziele der Therapie sind die virale Protease und die virale RNA-abhängige-RNA-Polymerase sowie der virale Replikationsfaktor NS5A. Mit einer Kombination aus zwei oder drei Hemmstoffen dieser Targets können nahezu alle Patient*innen erfolgreich therapiert werden. Neben der effektiven Virusausheilung konnte zudem auch die Therapiezeit maßgeblich verringert werden.

Mittlerweile sind Therapien verfügbar, die gegen alle Genotypen mit hoher Wirksamkeit eingesetzt werden können. Dennoch stehen diese Therapiemöglichkeiten weltweit nur einem geringen Anteil der chronisch infizierten Patient*innen zur Verfügung, da diese Therapieoptionen sehr kostspielig sind und somit in Ländern mit niedrigem Einkommen selten eingesetzt werden. Obwohl sich die Therapieoptionen in der letzten Dekade stark verbessert haben und gut toleriert werden, bieten diese keinen Schutz vor erneuter Reinfektion. Des Weiteren wird die chronische Infektion aufgrund ihres langen asymptomatischen Verlaufs oft spät diagnostiziert, und Infizierte können somit unwissentlich Überträger des Virus sein. Aufgrund dessen ist eine HCV-Impfung von großem öffentlichem Interesse, um eine Verbreitung des Virus weiter einzudämmen. Für eine globale Ausrottung von HCV ist zu den bereits bestehenden Therapien eine prophylaktische Impfung unabdingbar.

Daher stellen sich die Fragen: Warum schafft das Immunsystem bei einigen Patient*innen mit einer akuten HCV-Infektion eine spontane Ausheilung, ohne eine Therapie? Was unterscheidet diese Patient*innen von denen, die eine chronische Infektion entwickeln und behandelt werden müssen? Mit diesen Fragen beschäftigt sich unser Team von Wissenschaftler*innen des Universitätsklinikums Düsseldorf seit einigen Jahren.

Um diese Fragen eingehend zu erforschen, untersucht unsere Arbeitsgruppe eine große Kohorte von intravenös Drogen injizierenden Menschen („people who inject drugs“, PWID), die in Essen rekrutiert werden. Diese Kohorte umfasst aktuell etwa 1.000 Patient*innen, die sich entweder in einer Opioid-Substitutionstherapie („Methadontherapie“) befinden oder sich einem stationären Drogenentzug unterziehen. In der Substitutionstherapie können unter ärztlicher Kontrolle heroinabhängige Patient*innen mit Opiatersatzstoffen wie Methadon behandelt werden. Ziel der Substitutionsbehandlung ist es, über lange Sicht stabile Lebensverhältnisse zu ermöglichen. Die Prävalenz von HCV ist in dieser Patient*innengruppe von intravenösen Drogengebraucher*innen besonders hoch aufgrund des häufig praktizierten Teilens von Injektionsnadeln oder anderen Injektionsmaterialien mit anderen Drogengebraucher*innen. Durch dieses Risikoverhalten sind zwei Jahre nach dem ersten intravenösen Drogenmissbrauch etwa 30 Prozent der Individuen mit HCV infiziert. Diese Prävalenz steigt mit der Dauer des Drogenabusus weiter an, und das Robert Koch-Institut beziffert die Zahl der HCV-positiven Individuen, innerhalb der intravenösen Drogenkonsumierenden, nach zehn Jahren auf 72 Prozent. Schätzungsweise liegt die Zahl der intravenösen Drogengebraucher*innen weltweit bei etwa 16 Millionen, daher stellt der intravenöse Drogenmissbrauch ein großes Problem für das öffentliche Gesundheitssystem dar. Besonders in westlichen Ländern mit einem hohen Einkommen ist die Frequenz der HCV-Transmissionen, die auf intravenösen Drogenkonsum zurückzuführen sind, besonders hoch. Dies zeigt sich auch in den Zahlen des Robert Koch-Instituts für Deutschland. Der Großteil aller gemeldeten HCV-Fälle des Jahres 2017, bei denen der Transmissionsweg bekannt war, wurden auf intravenösen Drogenkonsum zurückgeführt (78 %)[2].

Zur detaillierten Erforschung der Rolle des angeborenen und erworbenen Immunsystems bei der HCV-Infektion, stellt eine Kohortenanalyse ein sehr probates Mittel dar. Bezogen auf eine HCV-Infektion können wir die PWID-Kohorte in drei Gruppen einteilen. In der Gruppe der PWID in Essen sind 57 Prozent anti-HCV positiv und haben detektierbare HCV-RNA, sind also chronisch mit HCV infiziert. Dagegen sind 24 Prozent anti-HCV positiv ohne Nachweis von HCV-RNA. Diese Patient*innen haben also die HCV-Infektion spontan ausgeheilt. Die restlichen 19 Prozent sind trotz kontinuierlichen Hochrisikoverhaltens HCV-Antikörper negativ. Die hohe Bereitschaft dieses PWID-Kollektivs, sich Injektionsmaterialien untereinander zu teilen, legt nahe, dass zumindest ein Teil dieser Gruppe HCV-exponiert war, es aber nicht zu einer anhaltenden, aktiven Virusreplikation gekommen ist. Dementsprechend haben diese exponierten Anti-HCV negativen PWID das Virus entweder in der frühen Phase vor dem Einsetzen einer erworbenen Immunantwort kontrolliert oder sind resistent gegenüber einer HCV-Infektion. Untersuchungen der Immunantwort können Antworten liefern, warum diese Individuen vor einer Infektion geschützt sind.

Zelluläre Immunantwort bei Hepatitis C

Das Immunsystem besitzt die Fähigkeit, virusinfizierte Zellen zu erkennen und abzutöten. Multiple Veröffentlichungen zeigen, dass vor allem virusspezifische T-Zellen, die dem erworbenen Immunsystem zugeord-

(2) NK-Zell-Aktivierung: Ein Gleichgewicht an Signalen, welches durch inhibitorische und aktivierende Rezeptoren an die NK-Zelle übermittelt wird, sorgt für eine Toleranz gegenüber gesunden Zellen. Virusinfizierte oder Tumorzellen, die HLA-Moleküle auf der Oberfläche herunterregulieren, werden über „missing self“ erkannt. Das Wegfallen des inhibitorischen Signals führt zur Verschiebung des Signalgleichgewichts hin zu einer Aktivierung der NK-Zelle, die eine direkte Lyse der Zielzellen, aufgrund einer Ausschüttung von zytotoxischen Granula, zur Folge hat. Eine Hochregulation von Stressinduzierten Liganden, die durch aktivierende NK-Zell-Rezeptoren erkannt werden, führt zu einem verstärkten aktivierenden Signal, welches das inhibitorische Signal überlagert und folglich zu einer Abtötung der Zielzellen führt.
Quelle: eigene Darstellung

net werden, eine wesentliche Rolle bei der Bekämpfung der HCV-Infektion spielen[3]. Allerdings verdichten sich die Hinweise, dass auch Zellen des angeborenen Immunsystems in der frühen Phase der Infektion von großer Bedeutung für den Infektionsverlauf sind[4].

Arbeiten unserer Gruppe und internationaler Kolleg*innen zeigten bereits, dass Natürliche Killer (NK)-Zellen den Verlauf einer HCV-Infektion beeinflussen. NK-Zellen sind ein Teil des angeborenen Immunsystems, das die erste Verteidigungslinie unseres Immunsystems gegen eindringende Pathogene darstellt. Sie spielen bei der Kontrolle von Tumoren aber auch von Virusinfektionen eine zentrale Rolle, da sie in der Lage sind, kranke Zellen zu töten, während sie gesunde Zellen unberührt lassen. NK-Zellen zeichnen sich dadurch aus, dass sie schnell und ohne vorangegangene Expansion ihre Effektorfunktion ausüben können. Neben dem direkten Abtöten von kranken Körperzellen durch die Ausschüttung lytischer Granula besteht ihre Aufgabe darin, andere Immunzellen zu aktivieren und anzulocken. Dies machen NK-Zellen, indem sie sogenannte Zytokine und Chemokine sekretieren.

Aktivierung der Natürlichen Killerzellen

Wie können NK-Zellen aktiviert werden? NK-Zellen detektieren unter anderem das sogenannte humane Leukozytenantigen (HLA), das sich auf der Zelloberfläche nahezu aller Zellen des menschlichen Körpers befindet. Durch die Interaktion von spezifischen Rezeptoren der NK-Zellen mit HLA-Molekülen auf anderen Körperzellen können NK-Zellen differenzieren, ob die Körperzelle krank ist und abgetötet werden soll, oder ob sie gesund ist. Dieser Prozess des Lernens, was gesund und was krank ist, wird als NK-Zell-Lizensierung bezeichnet. Ein Gleichgewicht von inhibitorischen und stimulatorischen Signalen, ausgelöst über eine Vielzahl an Rezeptoren, reguliert die NK-Zell-Funktion. Durch die Detektion einer geringen oder gar fehlenden HLA-Expression auf den Zielzellen, was ein Anzeichen für eine maligne oder infizierte Zelle sein kann, werden NK-Zellen aktiviert. Der Mechanismus ist unter dem Namen „missing self“ bekannt; demnach erkennen NK-Zellen die Abwesenheit von „Selbst-Strukturen“ auf der Zielzelle.

NK-Zellen exprimieren eine Vielzahl an Rezeptoren, die an HLA-Moleküle binden. Zu diesen Rezeptoren gehören unter anderem Killerzell-Immunoglobulin-ähnliche Rezeptoren (KIR), welche die NK-Zell-Aktivierung inhibieren und folglich die zytotoxischen Effektormechanismen unterbinden können. Bleibt jedoch das inhibitorische Signal aus, können NK-Zellen tumorös entartete oder Virus-infizierte Zellen abtöten, indem sie Zytokine und zytotoxische Granula ausschütten. Der Inhalt dieser ausgeschütteten Granula kann Poren in der Zellmembran der Zielzelle bilden und damit ermöglichen, dass sogenannte Granzyme in die Zelle eindringen und dort einen programmierten Zelltod der infizierten oder entarteten Zelle initiieren. Ein weiterer Mechanismus, durch den NK-Zellen aktiviert werden, ist die Hochregulation von Stressliganden auf den Zielzellen. Stressliganden können beispielsweise während einer Infektion hochreguliert und durch aktivierende Rezeptoren auf der Oberfläche der NK-Zellen erkannt werden. Die Form der Aktivierung wird daher als „induced self“, als selbstinduzierte Aktivierung bezeichnet.

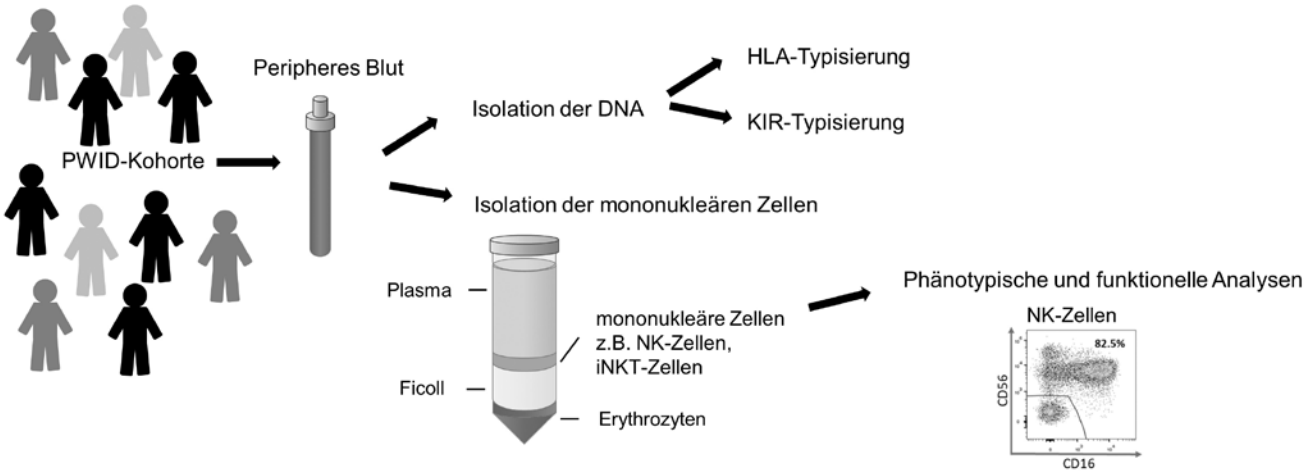
Killerzellen können zur frühen Immunkontrolle beitragen

Dass NK-Zellen zu einer Immunkontrolle von HCV vor einer Serokonversion beitragen, wurde unter anderem in einer Studie gezeigt, bei der die NK-Zell-Funktion nach einer Nadelstichverletzung und Kontakt mit HCV-kontaminiertem Blut untersucht wurde. Die NK-Zellen zeichneten sich durch eine erhöhte Zytokinsekretion von Interferon gamma und gesteigerte Zytotoxizität aus. Neben der gesteigerten Funktionalität wurde eine erhöhte Expression von aktivierenden Rezeptoren auf der Zelloberfläche der NK-Zellen beschrieben[5]. Darüber hinaus konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass die Anwesenheit von NK-Zellen, die den inhibitorischen NK-Zell-Rezeptor KIR2DL3 in Abwesenheit des inhibitorischen NK-Zell-Rezeptors NKG2A exprimieren, mit einem Schutz vor einer Infektion bei HCV-exponierten Individuen assoziiert ist. Zudem wird HLA-E, der Ligand für den inhibitorischen NK-Zell-Rezeptor NKG2A, während der Infektion hochreguliert. Da die KIR2DL3-positiven NKG2A-negativen Zellen nicht sensitiv für eine HLA-E-vermittelte Inhibition sind, könnten diese Zellen helfen, HCV-exponierte Individuen vor einer HCV-Infektion zu schützen[6].

Die NK-Zell-Aktivierung in der frühen Phase einer Infektion kann durch die Interaktion von HLA-Molekülen und KIRs auf NK-Zellen beeinflusst sein. Assoziationsstudien können hierbei helfen, Zusammenhänge zwischen genetischen Varianten und verschiedenen Verlaufsformen einer Infektion zu identifizieren. Daher wird bei diesen Assoziationsstudien das Patient*innenkollektiv im Hinblick auf spezifische genetische Merkmale charakterisiert und anschließend auf eine Assoziation mit dem Infektionsstatus untersucht. In einer solchen Studie konnten Khakoo und Kolleg*innen zeigen, dass die genetisch determinierte Kombination von KIR2DL3 und dem Liganden HLA-C-Gruppe 1 (HLA-C1) signifikant häufiger in Patient*innen mit einer spontan ausgeheilten HCV-Infektion vorkommt. Darüber hinaus war die Effektorfunktion der NK-Zellen von Patient*innen, die homozygot für HLA-C1 waren, besser als die von Patient*innen, die genetisch einen HLA-C2-Hintergrund haben[7].

Genetische Analysen

Für die Analyse, ob bestimmte KIR/KIR-Liganden-Kombinationen einen Einfluss auf den HCV-Krankheitsverlauf in einer Hochrisikokohorte von PWID haben, wurden 266 therapienaive, genau charakterisierte Patient*innen untersucht. Eingeschlossen wurden 151 chronisch infizierte PWID (HCV-RNA positiv), 64 Patient*innen, die eine spontane Ausheilung erfahren haben (HCV-RNA negativ) sowie 51 Anti-HCV-negative PWID, die am ehesten einen natürlichen Schutz vor einer persistierenden HCV-Infektion haben. Bei diesen Patient*innen wurden die HLA-Klasse-I-Antigene HLA-A, B und C hochauflösend typisiert. Die hohe Auflösung ermöglicht die genaue Charakterisierung, welche KIR-Liganden der*die jeweilige Patient*in trägt und darüber hinaus beispielsweise die Unterscheidung zwischen HLA-A und HLA-B-Allelen, die ein sogenanntes Bw6- oder Bw4-Motiv kodieren. Bw4 ist der Ligand für den inhibitorischen Rezeptor KIR3DL1 und wird über eine spezifische Region in HLA-A- und -B-Molekülen definiert. Die Aminosäurenabfolge der HLA-Allele definiert, ob diese



(3) Schematischer Ablauf der PWID-Studie: Nach der Blutentnahme werden mononukleäre Zellen, welche beispielsweise NK-Zellen enthalten, durch Dichtegradientenzentrifugation isoliert. Die durchflusszytometrische Analyse dient anschließend der phänotypischen und funktionellen Analyse von NK-Zellen. Für die HLA- und KIR-Typisierung der Individuen wird zudem DNA aus dem peripheren Blut isoliert.
Quelle: eigene Darstellung

in der Lage sind, an KIR3DL1 zu binden. Allele, die keine Bindung zu KIR3DL1 eingehen können, tragen ein sogenanntes Bw6-Motiv. Dagegen sind Allele, die ein Bw4-Motiv tragen, fähig, mit KIR3DL1 zu interagieren. Zusätzlich können anhand der Sequenz zwei genetische Varianten von Bw4 unterschieden werden. Die genetische Variante mit einem „I“ (Bw4 80(I)) kann sehr gut an KIR3DL1 binden, wohingegen die „T“-Variante mit einer schwächeren Bindung an KIR3DL1 (Bw4 80(T)) assoziiert ist. Diese schwächere Bindung geht folglich mit einer geringeren Inhibition der NK-Zelle einher. Darüber hinaus wurde die Kohorte auch KIR-typisiert. Die KIR-Gene sind in einer hoch variablen Region im humanen Genom lokalisiert. Aktuell sind 17 KIRs beschrieben, die in unterschiedlichen Kombinationen in verschiedenen Individuen vorkommen können. Nach erfolgter HLA- und KIR-Typisierung der Kohorte kann durch statistische Tests berechnet werden, ob KIR-KIR-Liganden-Kombinationen mit dem HCV-Infektionsverlauf assoziiert sind.

Die genetische Analyse der PWID ergab, dass die Konstellation von KIR3DL1 in Kombination mit Bw4 80(T) mit einer spontanen Ausheilung von HCV assoziiert ist[8]. Da dies die erste Kohortenstudie war, die KIR3DL1/Bw4 80(T) mit einem HCV Infektionsausgang verknüpfte, wurde zur Verifizierung die Assoziation in einer unabhängigen Kohorte untersucht. Dafür wurden 342 PWID aus Nordamerika analysiert. Auch in dieser Kohorte war die genetische Kombination von KIR3DL1/HLA-Bw4 80(T) signifikant häufiger in Patient*innen, die eine spontane Ausheilung erfahren haben, im Vergleich zu chronisch HCV-Infizierten. Somit konnte die Assoziation zwischen dem NK-Zell-Rezeptor KIR3DL1 und seinem Liganden Bw4 80(T) mit einer spontanen Ausheilung einer HCV-Infektion in zwei unabhängigen Kohorten gezeigt werden. Patient*innen mit diesem genetischen Hintergrund heilen daher häufiger aus. Im weiteren Verlauf des Projekts wurde bestimmt, welchen funktionellen Einfluss dieser KIR3DL1/Bw4 80(T)-Genotyp hat[8].

NK-Zellen schützen in der spät akuten Phase

Dafür wurde ein repräsentativer Anteil der Kohorte näher charakterisiert. Solche funktionellen und phänotypischen Analysen können beispielsweise mittels Durchflusszytometrie durchgeführt werden. Mit dieser Methode können sowohl Oberflächenmoleküle auf verschiedenen Immunzell-Subtypen als auch intrazelluläre Proteine quantitativ bestimmt werden. Für die Analyse der zu untersuchenden Zielpopulation werden mit Fluoreszenzfarbstoff markierte Antikörper verwendet, die gegen hochspezifische Zelloberflächenantigene gerichtet sind. Mit einer Kombination an verschiedenen Antikörpern, die gegen sogenannte Cluster von Differenzierungsmarkern (CD) gerichtet sind, können beispielsweise NK-Zellen über ihre Expression von CD16 und CD56 und die fehlende Expression der T-Zell- und B-Zell-Marker CD3 und CD19 identifiziert werden. Auch Effektorfunktionen können durchflusszytometrisch bestimmt werden, indem Zytokine intrazellulär durch fluoreszenzmarkierte Antikörper angefärbt werden.

Für die Untersuchung der Funktion von KIR3DL1-positiven NK-Zellen im Kontext einer HCV-Infektion wurden mononukleäre Zellen des peripheren Blutes mit einer Zelllinie, den sogenannten K562, stimuliert. K562 zeichnen sich durch ihre fehlende HLA-Expression auf der Oberfläche aus und führen somit zu einer Aktivierung von NK-Zellen über „missing self“. Neben der Zytokinproduktion wurde auch die Degranulationsfähigkeit der NK-Zellen untersucht. KIR3DL1-positive NK-Zellen von HCV infizierten Individuen mit einem Bw4 80(T) genetischen Hintergrund zeigten sowohl eine erhöhte Zytokinsekretion als auch ein gesteigertes Degranulationsvermögen im Vergleich zu Bw4 80 (I)-positiven PWID. Die erhöhte Funktionalität von KIR3DL1-positiven NK-Zellen könnte während einer akuten HCV-Infektion von Vorteil sein, sodass Individuen, die ein Bw4 80 (T)-Motiv tragendes HLA-Allel exprimieren, HCV spontan eliminieren und folglich keine chronische HCV-Infektion entwickeln. Da Bw4 80 (T) als schwächerer Ligand für KIR3DL1 beschrieben ist, muss im Fall einer HCV-Infektion nur ein geringerer inhibitorischer Schwellenwert überwunden werden, um NK-Zellen zu aktivieren.

NK-Zellen schützen in der früh akuten Phase

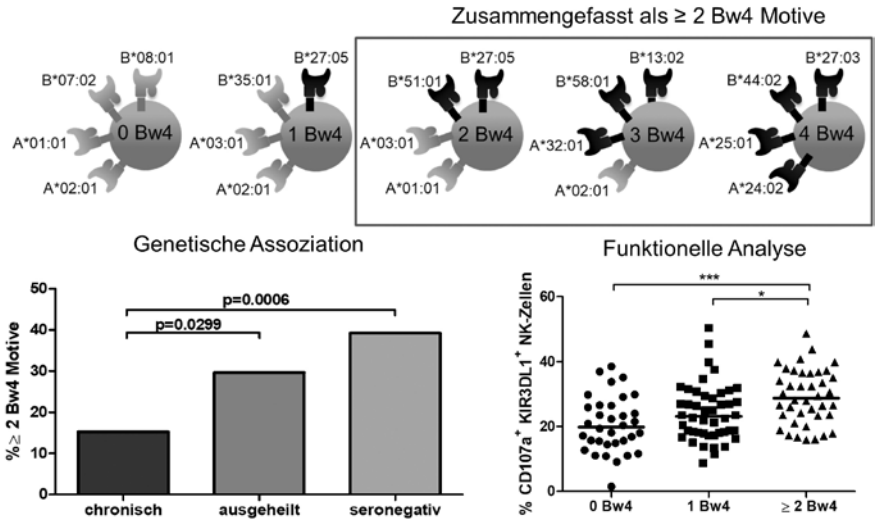
Auch ein zweiter unabhängiger Mechanismus konnte in der genetischen Analyse mit dem HCV-Infektionsverlauf assoziiert werden. Da jedes Individuum zwei HLA-A und zwei HLA-B Moleküle trägt, kann jeder maximal vier Bw4-Motive exprimieren. Auf genetischer Ebene konnten wir im Vergleich zu Individuen mit einem oder keinem Bw4-tragendem Allel zeigen, dass PWID die multiple Bw4-tragende Allele besitzen, mit einer höheren Wahrscheinlichkeit HCV eliminieren, bevor es zu einer Serokonversion kommt. Eine ansteigende Anzahl an Bw4-Motiven konnte zudem mit einer schrittweisen Erhöhung der KIR3DL1-positiven NK-Zell-Funktion korreliert werden. Die daraus resultierende verbesserte Interferon gamma-Expression und erhöhte Degranulation im Kontext von multiplen Bw4-Motiven kann auf einen Prozess, der als Lizensierung bezeichnet wird und einen Lernprozess der NK-Zellen darstellt, zurückgeführt werden. Wenn KIR-positive NK-Zellen mehrmaligen Kontakt mit vielen

inhibitorischen Liganden durchlaufen haben, sind sie im toleranten Status hochgradig inhibiert. Beim Wegfall dieses starken inhibitorischen Signals können diese NK-Zellen stärker aktiviert werden und schütten mehr Zytokine und Granula aus als Zellen, die vorher nur über wenige Interaktionen gehemmt wurden und daher keinen effektiven Lernprozess durchlaufen haben[8].

NKT-Zellen in der HCV-Infektion

Die Ausheilung einer HCV-Infektion ist sowohl mit der Aktivierung des angeborenen Immunsystems als auch mit der nachfolgenden Aktivierung des erworbenen Immunsystems assoziiert. Vor ungefähr 20 Jahren wurde eine neue Zellsubpopulation identifiziert, die eine Verbindung zwischen beiden Immunsystemen bildet. Natürliche Killer T (NKT)-Zellen weisen Eigenschaften von Zellen des angeborenen, aber auch des erworbenen Immunsystems auf. Sie besitzen analog zu T-Zellen einen T-Zellrezeptor, der im Gegensatz zu T-Zellen keine Peptide sondern Glykolipide erkennt. Diese werden über das nicht-klassische Haupthistokompatibilitätskomplex-ähnliche Molekül CD1d präsentiert. Zudem exprimieren NKT-Zellen neben dem klassischen T-Zellmarker CD3 auch NK-Zellrezeptoren auf der Oberfläche. Ihre Fähigkeit, ohne vorangegangene Sensibilisierung Zytokine und zytotoxische Granula auszuschütten, ist eine Eigenschaft von Zellen des angeborenen Immunsystems.

Die Rolle, die NKT-Zellen bei dem Verlauf einer HCV-Infektion spielen, ist jedoch unzulänglich definiert. Mit Hilfe unserer PWID-Kohorte konnten wir einen Subtyp der NKT-Zellen, die invarianten NKT (iNKT)-Zellen während einer HCV-Infektion näher charakterisieren. iNKT-Zellen zeichnen sich durch einen hoch konservierten semi-invarianten T-Zellrezeptor aus. Es konnte gezeigt werden, dass



(4) Erhöhte Wahrscheinlichkeit der HCV-Eliminierung in PWID mit multiplen Bw4-tragenden Allelen: Schematische Darstellung über die Einteilung der PWID anhand der HLA-Typisierungsergebnisse in 0 Bw4-, 1 Bw4- und ≥ 2Bw4-Motiv-tragende Individuen. Bw4-tragende HLA-A- und HLA-B-Allele sind in schwarz dargestellt. Die genetische Analyse zeigte, dass PWID mit multiplen ≥ 2 Bw4-Motiv-tragenden Allelen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit HCV eliminieren, bevor es zu einer Serokonversion kommt. Zusätzlich zeigten funktionelle NK-Zell-Analysen, dass die ansteigende Anzahl an Bw4-Motiven mit einer Steigerung der Degranulationsfähigkeit (CD107a) einhergeht.
Quelle: Thoens C, Senff T, Hydes TJ, Manser AR, Heinemann FM, Heinold A, Heilmann M, Kim AY, Uhrberg M, Scherbaum N, Lauer GM, Khakoo SI, Timm J. HLA-Bw4 80(T) and multiple HLA-Bw4 copies combined with KIR3DL1 associate with spontaneous clearance of HCV infection in people who inject drugs. J Hepatol. 2017;67(3):462-70

iNKT-Zellen in der chronischen Infektion aktiviert sind. Potenziell konnten wir zwei Mechanismen darlegen, die diesen Aktivierungsstatus erklären könnten. Zum einen wird in der HCV-infizierten Leber Interferon alpha produziert, das auf Zellen des peripheren Blutes eine leichte Hochregulation von CD1d, dem Liganden von iNKT-Zellen, auslösen kann. Interferon könnte somit indirekt die Aktivierung von NKT-Zellen vermitteln. Leberanalysen zeigten zudem eine signifikant erhöhte CD1d-Transkription in HCV-infizierten Lebern im Vergleich zu Hepatitis-B-infizierten Lebern. Zum anderen kann das proinflammatorische Zytokinmilieu für die Modulation des Aktivierungsstatus, von iNKT-Zellen verantwortlich sein. Eine Kombination an Zytokinen führte zu einer signifikanten Erhöhung des Aktivierungsmarkers CD38 auf iNKT-Zellen. Zur Identifizierung des Einflusses dieses erhöhten Aktivierungsstatus werden momentan ausführliche funktionelle Analysen durchgeführt.

Ausblick

Das Ziel dieser hier beschriebenen immunologischen Grundlagenforschung ist es, ein besseres Verständnis der HCV-Infektion zu erlangen und dazu beizutragen, die komplexen Mechanismen aufzuklären, die bei einigen Individuen zu einer spontanen Elimination des Virus führen beziehungsweise Individuen vor einer Infektion schützen. Ein besseres Verständnis der Rolle des angeborenen und erworbenen Immunsystems für den HCV-Infektionsverlauf könnte für die Entwicklung einer prophylaktischen Impfung helfen.

Summary

Worldwide, 71 million people are chronically infected with HCV, and the WHO estimates that 400,000 people die from HCV-associated liver diseases each year. While 15–45% of infected individuals are able to spontaneously clear the infection without the need for therapy, 55–85% develop a chronic infection. Since in western industrialized countries the most important risk factor to acquiring HCV is intravenous drug use, we use a cohort of people who inject drugs (PWID) to gain novel insight into the contribution of the innate as well as adaptive immune system to HCV infection outcome. We comparatively analyze patients that develop chronic infection, individuals with spontaneous immune control of HCV infection, and individuals that remain anti-HCV seronegative despite continuous high-risk behaviour.
There is growing evidence that natural killer (NK) cells, which are part of the innate immune system, contribute to HCV control. Genetic association studies linked certain combinations of NK cell receptors and their ligands with beneficial HCV infection outcome. We performed a cohort study to analyze how the combination of killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) that regulate NK cell function and their ligands impact the HCV infection outcome in PWID. The genetic combination of the NK cell receptor KIR3DL1 and its weaker ligand HLA Bw4 80(T) was associated with spontaneous clearance of HCV infection in two independent cohorts. Further functional characterization showed that KIR3DL1 positive NK cells from patients with that HLA-Bw4 80(T) genetic background showed superior functionality. Besides the analysis of NK cells, HCV cohort studies helped to characterize the impact of an immune cell type that bridges the innate and the adaptive immune system, namely natural killer T cells, in HCV infection outcome. We could demonstrate that NKT cells are activated in chronically infected individuals, possibly driven by the cytokine milieu in these patients. The functional consequence is currently under further investigation.
Even though HCV cure rates are nearly at 100%, HCV still poses a major healthcare problem, since infection could not yet be prevented. Immunological basic research could help to gain a better understanding of the causes that lead to spontaneous resolution or even which mechanisms protect individuals from infection. This knowledge could help to develop an HCV vaccination, which is needed for the global eradication of HCV.

Anmerkungen/Literatur

1) WHO. Hepatitis C Fact sheet 9 July 2019 [Retrieved July 24, 2019]. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/.
2) Robert Koch-Institut. Epidemiologisches Bulletin Nr. 29, Hepatitis C im Jahr 2017. 2018.
3) Timm J, Walker CM. Mutational escape of CD8+ T cell epitopes: implications for prevention and therapy of persistent hepatitis virus infections. Med Microbiol Immunol. 2015;204(1):29–38.
4) Cheent K, Khakoo SI. Natural killer cells and hepatitis C: action and reaction. Gut. 2011;60(2):268-78.
5) Werner JM, Heller T, Gordon AM, Sheets A, Sherker AH, Kessler E, Bean KS, Stevens M, Schmitt J, Rehermann B. Innate immune responses in hepatitis C virus-exposed healthcare workers who do not develop acute infection. Hepatology. 2013;58(5):1621–31.
6) Thoens C, Berger C, Trippler M, Siemann H, Lutterbeck M, Broering R, Schlaak J, Heinemann FM, Heinold A, Nattermann J, Scherbaum N, Alter G, Timm J. KIR2DL3(+) NKG2A(-) natural killer cells are associated with protection from productive hepatitis C virus infection in people who inject drugs. J Hepatol. 2014;61(3):475–81.
7) Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, Cheng J, Goedert JJ, Vlahov D, Hilgartner M, Cox S, Little AM, Alexander GJ, Cramp ME, O'Brien SJ, Rosenberg WM, Thomas DL, Carrington M. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. Science. 2004;305(5685):872–4.
8) Thoens C, Senff T, Hydes TJ, Manser AR, Heinemann FM, Heinold A, Heilmann M, Kim AY, Uhrberg M, Scherbaum N, Lauer GM, Khakoo SI, Timm J. HLA-Bw4 80(T) and multiple HLA-Bw4 copies combined with KIR3DL1 associate with spontaneous clearance of HCV infection in people who inject drugs. J Hepatol. 2017;67(3):462–70.

*Der*die Autor*in*

Tina Senff erlangte ihren Bachelorabschluss in Biomedizin 2011 an der Hogeschool Zuyd in den Niederlanden. Anschließend studierte sie von 2011 bis 2014 an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen und verfasste ihre Masterarbeit in Biologie am Institut für Immunologie. Sie promovierte von 2014 bis 2018 im Rahmen des DFG-Graduiertenkollegs 1949 „Immunantworten in Infektionskrankheiten – Regulation zwischen angeborener und erworbener Immunität“ im Labor von Prof. Jörg Timm am Institut für Virologie in Essen und Düsseldorf. Während ihrer Promotionszeit absolvierte sie einen dreimonatigen Forschungsaufenthalt an der Universität von Southampton/Southampton General Hospital, im Labor von Prof. Salim Khakoo. 2018 erfolgte der Abschluss der Promotion an der Universität Duisburg-Essen mit dem Thema „The role of Natural Killer cells and Natural Killer T cells in HCV infection“. Seit 2018 arbeitet sie als Postdoc im Institut für Virologie in Düsseldorf.

Jörg Timm studierte von 1992 bis 1999 Medizin an den Universitäten Münster und Bonn. In dieser Zeit verfasste er auch seine Doktorarbeit am Institut für Pharmakologie der Universität Bonn und wurde 2000 promoviert. Von 2000 bis 2002 arbeitete Timm zunächst als Arzt im Praktikum und dann als Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Knappschaftskrankenhaus Bochum-Langendreer. Von 2002 bis 2005 folgte ein Forschungsaufenthalt in Boston am Massachusetts General Hospital/Harvard Medical School, im Labor von Bruce Walker, wo sich Jörg Timm zunehmend unter der Leitung von Todd Allen mit der Immunbiologie der Hepatitis-C-Virus-Infektion beschäftigte. Nach seiner Rückkehr nach Deutschland arbeitete Timm zunächst wieder als Assistenzarzt am Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum, bevor er 2006 an das Institut für Virologie in Essen wechselte. Dort baute er eine eigene Arbeitsgruppe zur Immunbiologie der Virushepatitis auf. Es folgten die Habilitation im Jahr 2010 und die Anerkennung zum Facharzt für Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie im Jahr 2011. Im gleichen Jahr erhielt Jörg Timm einen Ruf auf die Professur für Virologie an der Universität Duisburg-Essen. 2014 folgte er dann einem Ruf auf die Professur für Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf verbunden mit der Leitung des Instituts für Virologie am Universitätsklinikum Düsseldorf. Seit 2016 ist Jörg Timm Prodekan für Forschung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität.

Tina Senff. Foto: Vladimir Unkovic

Eine zunehmende Zahl an Forschungsarbeiten im Laufe der letzten zehn Jahre gibt deutliche Hinweise, dass die Zusammensetzung und auch die Funktion der intestinalen Mikrobiota, früher als Darmflora bezeichnet, einen fundamentalen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen haben.

Gute Mikroben, schlechte Mikroben

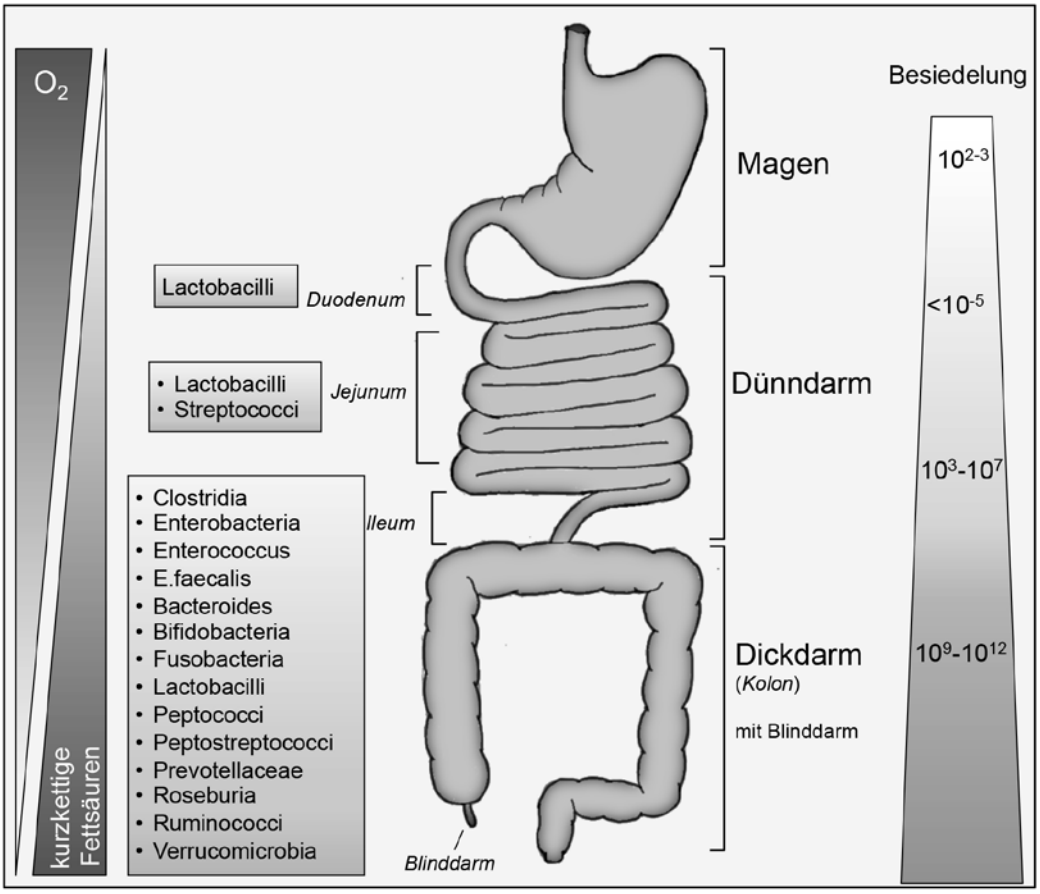
Ist die Darm-Mikrobiota Teil des Problems oder die Lösung bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen?

Von Alexandra Adamczyk & Astrid M. Westendorf

Der menschliche Darm ist mit einer Vielzahl von Mikroben, wie Bakterien, Viren, Archaeen, Pilzen und anderen Eukaryonten besiedelt. Er stellt ein komplexes und dynamisches Ökosystem dar, das sich innerhalb der ersten Lebensjahre etabliert. Früher als Darmflora bezeichnet, nennt es die Fachwelt heute intestinale Mikrobiota, und die Gesamtheit aller Gene der uns besiedelnden Mikroorganismen bezeichnet man als Mikrobiom. Eine zunehmende Zahl an Forschungsarbeiten im Laufe der letzten zehn Jahre gibt deutliche Hinweise, dass die Zusammensetzung und auch die Funktion dieses komplexen Systems einen fundamentalen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen haben. Dabei beschäftigen sich die meisten Forschungsarbeiten zum Darm-Mikrobiom mit Bakterien. Nicht zuletzt, da etwa 99 Prozent aller Gene im Darm bakteriellen Ursprungs sind. Allerdings nimmt die klinische Bedeutung viraler und eukaryotischer Bestandteile der Mikrobiota aktuell zu.[1]

Die bakterielle Mikrobiota von erwachsenen Menschen zeichnet sich durch eine Vielzahl von verschiedenen Bakteriengattungen aus. Bei

Alexandra Adamczyk. Foto: Vladimir Unkovic



(1) **Mikroorganismen entlang des Gastrointestinaltraktes.**
Die Anzahl der im Gastrointestinaltrakt lebenden Mikroorganismen steigt entlang des Traktes von etwa 100 pro Milliliter im Magen auf bis zu 10^{12} Bakterien pro Milliliter im Kolon. Die Sauerstoffverfügbarkeit, der pH-Wert und die Nahrungsverfügbarkeit sind wichtige Faktoren, die das Leben der Bakterien im Darm mitbestimmen. Die genaue Verteilung der Bakterien ist nach wie vor noch nicht eindeutig geklärt und vermutlich bei jedem Menschen sehr individuell. Neue Sequenzierungstechniken konnten jedoch bereits viele Bakterienarten für einzelne Abschnitte des Darms identifizieren. Der Magen und der obere Teil des Dünndarms (Duodenum und Jejunum) beherbergen nur einige wenige Bakteriengattungen. Im Kolon steigt die Vielfalt, wobei auch der Blinddarm (der zwischen Dünndarm und Dickdarm liegt) reich an unterschiedlichen Bakterienstämmen ist. Da im Dickdarm die Dichte der Bakterien am größten ist, findet sich dort auch die höchste Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren. Kurzkettige Fettsäuren werden von Darmbakterien unterschiedlichster Gattungen produziert und sind wichtige Metaboliten, die das Darm-Immunsystem modulieren.
Quelle: modifiziert nach Mowat AM, Agace WW: Regional specialization within the intestinal immune system.
Nature Reviews Immunology. 14/2014, 667–685

einem gesunden Erwachsenen mittleren Alters besteht dieses Ökosystem aus hauptsächlich anaeroben Bakterien mit einer Gesamtzahl von 10 bis 100 Billionen. Die Zusammensetzung der Darmbakterien hat einen erheblichen Effekt auf unsere Gesundheit und unser Wohlbefinden. Lange Zeit war die Wissenschaft bei der Untersuchung der Darmbewohner darauf angewiesen, die Bakterienkulturen außerhalb des Körpers zu kultivieren. Dies gelingt jedoch nur bei einem sehr kleinen Teil der Mikroben, die den menschlichen Darm besiedeln. Die Verfügbarkeit neuer Sequenziertechnologien (NGS, *Next Generation Sequencing*) und bioinformatischer Methoden erlaubt es mittlerweile, das Mikrobiom des Menschen schnell und erschwinglich auf molekularer Ebene zu analysieren. Diese molekularen Analysen der 16S-ribosomalen RNA haben bisherige kulturabhängige Schätzungen der gesamten Mikrobiota von 200 bis 300 Arten auf bis zu 1800 Gattungen mit bis zu 36.000 Arten ansteigen lassen.[2]

Tatsächlich siedeln im ganzen Verdauungstrakt Mikroorganismen, allerding ist die Dichte der einzelnen Spezies in den verschiedenen Darmabschnitten sehr unterschiedlich (Abb. 1). Die Mikroorganismen besiedeln das Darmlumen, die Muzinschicht und die mukosalen Oberflächen. Im Magen ist die Bakteriendichte normalerweise sehr gering, da das saure Milieu im Magen die meisten Bakterien abtötet. Auch der obere Dünndarm ist mit 10^3 bis 10^7 Bakterien pro Milliliter vergleichs-

weise dünn besiedelt. In Richtung Dickdarm nimmt die Bakteriendichte immer weiter zu – dort ist sie mit etwa 10^9 bis 10^{12} Bakterien am höchsten. Die Gesamtmasse der Mikrobiota im Darmtrakt eines erwachsenen Menschen beträgt zwischen 1.000 und 2.000 Gramm. Tatsächlich befinden sich im menschlichen Darm genauso viele Bakterien wie der Mensch Körperzellen besitzt.[2,3]

Die Interaktion der Mikrobiota mit unseren Körperzellen und besonders mit dem Immunsystem steht im Fokus unserer Forschungsarbeiten. Wir wollen verstehen, welche Funktionen einzelne Darmbewohner haben und wie sie unsere Gesundheit beeinflussen. Immer mehr zeichnet sich ab, dass die Darm-Mikrobiota unterschiedliche Aspekte des Stoffwechsels und des Immunsystems beeinflussen kann und damit auch aktiv an der Entstehung verschiedenster Erkrankungen beteiligt sein könnte.

Welche Bakterien leben im Darm?

Die Darmflora besteht zu 99 Prozent aus vier bakteriellen Phyla (Stämmen):

- Firmicutes (z.B. *Lactobacillus, Clostridium*)
- Bacteroidetes (z.B. *Prevotella*)
- Actinobakteria (z.B. *Bifidobacterium)*
- Proteobakteria (z.B. *Escherichia*)

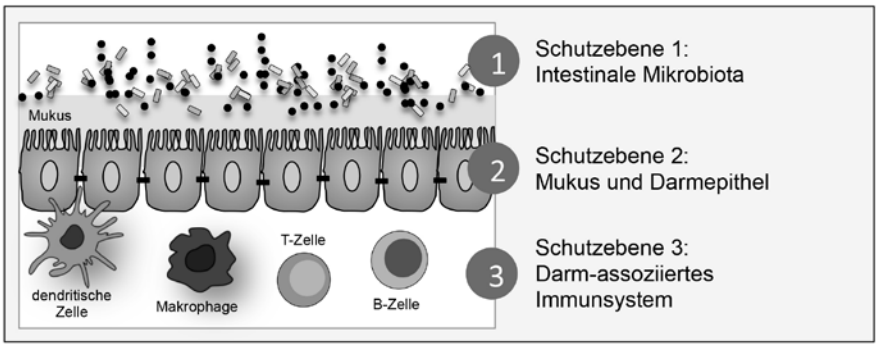
Über 95 Prozent der detektierten Bakterien gehören zu den Phyla Bacteroidetes oder Firmicutes. Die Zuordnung zu einer dieser Gruppen sagt aber nichts über die Eigenschaften der einzelnen Bakterienarten aus. Allerdings wird das Verhältnis der einzelnen Phyla zueinander als Indikator für eine gesunde Mikrobiota gewertet. Es ist mittlerweile wissenschaftlich gesichert, dass ein erniedrigter Firmicutes-/Bacteroidetes-Quotient generell mit einer pathologisch erhöhten Permeabilität der Darmmukosa vergesellschaftet ist.

Auf Speziesebene sind bereits in einem Individuum 200 bis 400 verschiedene Bakterien nachweisbar. Insgesamt wurden im menschlichen Darm bereits über 1.500 verschiedene Spezies identifiziert. Allerdings ist es schwierig, eine definierte Gruppe von Bakterienarten zu finden, die bei allen Menschen gleichermaßen vorhanden ist. Stattdessen hat jeder Mensch eine einzigartige Sammlung von möglichen Bakterien, was zu einem hohen Maß an Individualität führt.[1]

Die meisten dieser Bakterien sind an der Verdauung beteiligt und unterstützen den Menschen bei der intestinalen Immunabwehr. Als sogenannte Kommensale (kommensale Darmbakterien) lösen sie per Definition keine Krankheiten aus. Zu den kommensalen Bakterien zählen beispielsweise Bakterien aus der Familie der *Lactobacillaceae* und *Bifidobacteriaceae*. Andere kommensale Bakterien sind „fakultativ pathogen“ – das bedeutet, dass sie unter bestimmten Bedingungen Krankheiten auslösen können; dazu zählen zum Beispiel Bakterien aus der Familie der *Clostridiaceae* und *Enterobacteriaceae*. Im Allgemeinen gilt eine große Vielfalt (Diversität) an Bakterien im Darm als erstrebenswert. Bei bestimmten Erkrankungen wird beobachtet, dass die Diversität der Mikrobiota sinkt. Eine geringe Bakterienvielfalt wird als Anzeichen einer Dysbiose, also einer Störung in der mikrobiellen Zusammensetzung gewertet.

Wie entwickelt sich die intestinale Mikrobiota?

Der Fötus im Mutterleib ist weitgehend steril, abgesehen von einigen wenigen detektierbaren Bakterien, die vermutlich durch das Verschlucken von Fruchtwasser in den Darmtrakt des Fötus gelangen. Doch schon während der Geburt kommt es zur sogenannten „Erstkolonisierung“. Wird ein Kind natürlich entbunden, ähnelt seine Darm-Mikrobiota der vaginalen „Flora“ der Mutter und ist durch einen hohen Anteil an *Bifidobacterium* spezies pluralis (spp.) und *Lactobacillus* spp. gekennzeichnet. Wird ein Kind per Kaiserschnitt auf die Welt geholt, kommt es zu einer verringerten vertikalen Mutter-Kind-Transmission wichtiger intestinaler Bakterien. Daher ähnelt diese Mikrobiota eher der Zusammensetzung der Haut-



(2) **Schutzebenen im Darm.**
Schutzebene 1: Die Darmwand ist mit einer dichten Schicht von Darmbakterien ausgekleidet. Ihre Aufgabe ist es unter anderem, unerwünschte Keime zu verdrängen und unser Immunsystem zu trainieren. Schutzebene 2: Dies ist eine einzellige Schicht aus Epithelzellen, die mit einer Mukusschicht bedeckt ist. Zusammen dienen Epithelzellen und die Mukusschicht als selektiver und effektiver Filter. Schutzebene 3: Im Inneren der Darmwand befindet sich eine Vielzahl von verschiedenen Immunzellen – das Darm-assoziierte Immunsystem. Der Darm ist das größte Immunorgan, in dem sich etwa 80 Prozent aller Immunzellen befinden. Die verschiedenen Immunzellen wirken entweder direkt vor Ort oder gelangen über Blut und Lymphe an ihren Einsatzort.
Quelle: eigene Darstellung

bakterien der Mutter. In den ersten Lebensmonaten wird die Mikrobiota durch Stillen positiv beeinflusst, denn Muttermilch enthält eine sehr komplexe und diverse Zusammensetzung spezifischer *Bifidobacterium* spp. und *Lactobacillus* spp. Erst ab dem zweiten oder dritten Lebensjahr bildet sich eine relativ stabile, individuelle Darmflora aus, die in ihrer Zusammensetzung und Diversität (ab dann) der von Erwachsenen ähnelt. Aber auch im Erwachsenenalter ist die Mikrobiota ein dynamisches Ökosystem. Die Zusammensetzung kann durch verschiedene Faktoren wie Ernährung, Stress und Medikamente beeinflusst werden. Deshalb ist die genaue Komposition der Darm-Mikrobiota bei jedem Menschen so einzigartig wie sein Fingerabdruck.[1]

Welche Funktion hat die Darm-Mikrobiota?

Im Wesentlichen dient die Symbiose zwischen dem Menschen und den Darmbakterien der Gewinnung von Nährstoffen und Energie. Allerdings sind die Funktionen dieser Beziehung deutlich vielfältiger und komplexer.

Die Mikrobiota ist die erste unserer drei Schutzebenen im Darm und eng mit dem Darm-assoziierten Immunsystem verknüpft (Abb. 2). Die hier ansässigen Mikroorganismen interagieren ständig mit dem Immunsystem und trainieren es. Dies führt zu einer kontinuierlichen Balance pro- und antiinflammatorischer Immunantworten. Die Präsenz von intestinalen Bakterien ist ausschlaggebend für eine adäquate Entwicklung des gastrointestinalen Immunsystems und der intestinalen morphologischen Strukturen.

Bakterien unterstützen die Verdauung, indem sie Nahrungsbestandteile abbauen, die der Mensch mit seinen Enzymen nicht aufspalten kann. Dazu zählen vor allem unverdauliche Pflanzenbestandteile – die Ballaststoffe. Bis zu zehn Prozent der täglich aufgenommenen Kalorien werden durch den bakteriellen Abbau von Ballaststoffen durch die Darmbakterien zur Verfügung gestellt. Sie leisten einen Beitrag zur Regulation des Zucker- und Fettstoffwechsels. Beim Abbau von Ballaststoffen produzieren die Darmbakterien sogenannte kurzkettige Fettsäuren (engl. *short chain fatty acids*; SCFA) wie Acetat, Butyrat und Propionat. Diese sind vor allem im Kolon in hohen Konzentrationen zu finden (Abb. 1). Sie werden von den Darmzellen als Energiequelle genutzt und regulieren das Wachstum und die Entwicklung der Darmzellen. Die Wundheilung und die Aufrechthaltung der intestinalen Integrität werden somit durch die Anwesenheit von Produzenten kurzkettiger Fettsäuren nachweislich unterstützt. Neuere wissenschaftliche Ergebnisse zeigen zudem, dass kurzkettige Fettsäuren als Botenstoff zwischen den intestinalen Bakterien und dem Immunsystem fungieren. Die Sekretion kurzkettiger Fettsäuren hat eine entzündungshemmende Wirkung, unter anderem durch die Inhibition von NF-κB Signalwegen.[4]

Unter den kurzkettigen Fettsäuren wird besonders Butyrat aufgrund seiner physiologischen Effekte eine besondere Bedeutung für die Gesundheit unseres Darms zugesprochen. Es wird vermutet, dass das Fehlen beziehungsweise die Reduktion kurzkettiger Fettsäuren einen pathologischen Indikator darstellen könnte. Eigene Daten aus einer Studie in 2017 konnten dies untermauern. Im Rahmen dieser Studie haben wir unter anderem Stuhl- und Blutproben von Patient*innen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) untersucht. Die Analysen zeigten, dass der Stoffwechsel von kurzkettigen Fettsäuren bei diesen Patient*innen deutlich gestört war.[5] Litten die Patient*innen unter einer aktiven Darmentzündung, konnten geringere Butyratwerte im Stuhl nachgewiesen werden. Außerdem konnten wir deutlich machen, dass die Frequenz spezifischer regulatorischer T-Zellen (Tregs) durch die Anwesenheit kurzkettiger Fettsäuren verstärkt wurde. Diese Zellen haben eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung unserer Darmhomöostase und können aufgrund ihrer suppressiven Eigenschaften abnormale Entzündungsreaktionen – wie sie bei CED-Patient*innen vorkommen – abschwächen. Indirekt könnten kurzkettige Fettsäuren daher an wichtigen Darm-immunologischen Prozessen beteiligt sein.

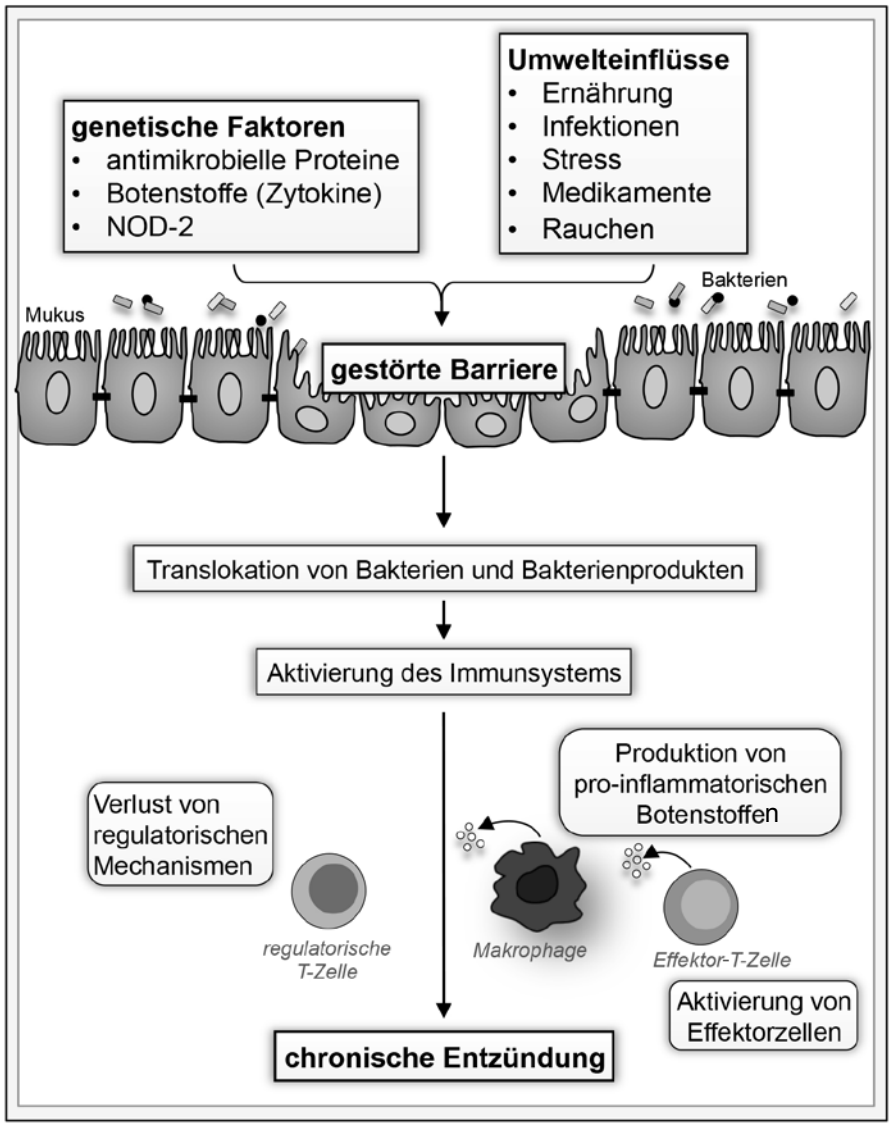
Neben den kurzkettigen Fettsäuren produzieren Darmbakterien auch wichtige Vitamine wie zum Beispiel Vitamin K und B-Vitamine. Darüber hinaus verhindert eine „gesunde“ Mikrobiota, dass potenziell schädliche (fakultativ pathogene) Bakterien, die natürlicherweise im Darm vorkommen, sich unkontrolliert vermehren. Ist der Darm mit „guten“ Bakterien kolonisiert, verdrängen diese die potentiell pathogenen Erreger. Zusätzlich produzieren manche Darmbakterien Abwehrstoffe und hindern die schädlichen Erreger daran, an die Darmwand zu adhärieren. Damit sind Darmbakterien essentiell an der Aufrechterhaltung der Darmbarriere beteiligt. Das ist wichtig, damit keine Erreger oder Schadstoffe durch die Darmwand hindurch ins Blut gelangen.

Die Mikrobiota stimuliert aber auch das darmeigene Immunsystem, und umgekehrt beeinflusst das Immunsystem die Zusammensetzung der Mikrobiota. Das gastrointestinale Immunsystem hat dabei die Aufgabe, eine physiologische Toleranz gegenüber dem eigenen Mikrobiom zu vermitteln und gleichzeitig gegen potenzielle Pathogene eine effektive und protektive Immunantwort zu etablieren. Um für die Unterscheidung zwischen „gut“ und „böse“ gewappnet zu sein, muss das Immunsystem tagtäglich trainiert werden. Wenn die Unterscheidung zwischen schädlichen und nicht-schädlichen Faktoren nicht funktioniert, kann sich zum Beispiel auch eine Autoimmunerkrankung entwickeln. Dann greift das Immunsystem körpereigene Strukturen an.

Eine dauerhafte Störung des Darmökosystems, zum Beispiel durch eine vermehrte Antibiotikaexposition, kann zur Dysbiose und zur Störung einer homöostatischen Mikrobiom-Wirt-Interaktion führen. Dysbiose ist eine pathophysiologisch relevante Veränderung in der Zusammensetzung und Aktivität des Mikrobioms.[1] Es ist naheliegend, dass eine gestörte Mikrobiota zunächst im Darm zu Problemen wie Bauchschmerzen, Durchfall oder Blähungen führt. Darüber hinaus wirkt sich eine gestörte mikrobielle Komposition aber auch negativ auf das Immunsystem aus. Die geschwächte Abwehr hat dann zur Folge, dass Betroffene besonders anfällig für Infektionen sind. Heute weiß man, dass das Darmmikrobiom zum Beispiel auch bei Patient*innen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa oder auch bei Patient*innen mit Darmkrebs gestört ist.

Was sind chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED)?

Fast jeder ist im Laufe seines Lebens mindestens einmal von einer Darmerkrankung betroffen. Meist wird sie durch eine Lebensmittelunverträglichkeit, Bakterien oder Viren ausgelöst und verursacht Symptome wie Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall, die typischerweise nach ein bis zwei Wochen abklingen und keine Folgeerscheinungen hinterlassen. Anders ist dies bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED). Sie unterscheiden sich von den anderen Darmerkrankungen durch chronisch-rezidivierende, entzündliche Krankheitsschübe, die ohne einen offensichtlichen äußeren Anlass auftreten. Die beiden häufigsten CED sind Morbus Crohn und Colitis ulcerosa (Box 2). Beide Krankheitsbilder werden erst seit Beginn des 20. Jahrhunderts intensiver beobachtet. Die Zahl der Erkrankungen nimmt kontinuierlich zu; vor allem in



(3) **Konzept zur Entstehung und Entwicklung chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (CED).**
Genetische Prädisposition und Umweltfaktoren können die intestinale Integrität stören, indem sie die Barrierefunktion der Epithelzellen beeinträchtigen. Folglich gelangen Bakterien und bakterielle Bestandteile ins mukosale Gewebe und aktivieren das dortige Immunsystem (vor allem Makrophagen und Effektor-T-Zellen). Es kommt zu Verlusten von regulatorischen Mechanismen. Dies kann schließlich zu einer gestörten Balance zwischen pro- und anti-inflammatorischen Immunantworten führen und sich letztlich in chronischen Entzündungsreaktionen im Darm manifestieren.
Quelle: modifiziert nach Neurath MF: Cytokines in inflammatory bowel disease. Nature Reviews Immunology. 14/ 2014, 329–342

Nordeuropa sind immer mehr Menschen betroffen – in Deutschland derzeit ungefähr 400.000 Menschen. Männer und Frauen erkranken mit etwa gleicher Häufigkeit. Besonders häufig manifestieren sich die Erkrankungen zum ersten Mal im Alter von 15 bis 35 Jahren.[6,7]

Morbus Crohn zeichnet sich durch diskontinuierliche und transmurale, das heißt durch alle Darmgewebsschichten verlaufende Entzündungen im gesamten Gastrointestinaltrakt aus, während die Entzündungspathologie der Colitis ulcerosa auf die Mukosa des Dickdarms beschränkt ist. CED-Patient*innen haben ein erhöhtes Risiko, an Darmkrebs zu erkranken. Ursachen sind vermutlich die anhaltenden Entzündungsprozesse in der Darmschleimhaut, die eine Entartung von Zellen und damit von Krebs begünstigen. Zudem scheint auch die Mikrobiota mitverantwortlich für die Karzinogenese zu sein.

Die Ätiologie beider Erkrankungen ist multifaktoriell und setzt sich zusammen aus einer Störung folgender Faktoren:

- Fehlregulationen des intestinalen Immunsystems
- genetische Prädispositionen
- An- oder Abwesenheit bestimmter bakterieller Stämme
- Umwelteinflüsse, wie zum Beispiel Ernährung und Medikation

All diese Faktoren resultieren in einer komplexen Störung der intestinalen Barriere mit anhaltenden Entzündungsprozessen (Abb. 3).

Die Gewebeschädigung der Darmschleimhaut bei CED wird durch eine unkontrollierte Immunzellaktivierung gegen normale Bestandteile des Darminhaltes ausgelöst. In der Folge einer durchlässigen epithelialen Barriere dringen Antigene in das subepitheliale Gewebe, die Lamina propria, ein und aktivieren dort die zelluläre Immunabwehr. Mit der Präsentation bestimmter Antigene durch Makrophagen oder dendritische Zellen kommt es zur Aktivierung und Differenzierung von T-Lymphozyten. Proinflammatorische Botenstoffe sorgen dabei für die Kommunikation zwischen den Beteiligten der zellulären Immunabwehr. Diese Botenstoffe verursachen auch eine Rekrutierung von Leukozyten aus dem Blut- sowie Lymphsystem in das Entzündungsareal. Hinzu kommt eine genetische Fehlregulierung durch bestimmte Mutationen. Beispielsweise haben etwa 50 Prozent der Morbus Crohn-Patient*innen Mutationen im NOD-2-Gen, das für eine Mustererkennung bakterieller Bestandteile codiert. Dadurch werden Bestandteile des eigenen Mikrobioms fälschlich als fremd erkannt. Diesen Prozess bezeichnet man auch als immunologischen Toleranzverlust. Als Ergebnis einer überaktivierten autoimmunen Entzündung kommt es zur dauerhaften Gewebeschädigung.

Da die Erkrankungen zurzeit noch nicht geheilt werden können, ist eine Verbesserung des subjektiven Wohlbefindens und der Lebensqualität der Betroffenen eines der wichtigsten Ziele der Therapie. Im Vordergrund der medikamentösen Therapie steht zurzeit die Behandlung mit entzündungshemmenden/immunmodulatorischen Medikamenten. Tierexperimentelle Modelle haben gezeigt, dass die Behandlung mit Antibiotika oder die keimfreie Haltung der Tiere zu einer deutlichen Reduktion der Entzündung und der damit assoziierten Karzinogene führt.[1] Diese Beobachtungen stellen Meilensteine für das Verständnis der Rolle des Mikrobioms bei der Entstehung von CED dar. Neuere Studien belegen, dass auch bei Patient*innen mit CED eine Verschiebung in der Zusammensetzung des Mikrobioms zu beobachten ist. Interessanterweise gibt es bakterielle Veränderungen, die jeweils eher Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa zuzuordnen sind; andere dagegen stehen eher allgemein im Zusammenhang mit CED. Die konsequenteste Veränderung, die bei CED auftritt, ist eine Abnahme in der Biodiversität, das heißt in der Artenvielfalt. Dies äußert sich vor allem in der Abnahme an Stämmen im Phylum Firmicutes und der Zunahme im Phylum Bacteroidetes. Die Veränderungen in der Zusammensetzung der Mikrobiota bringen auch funktionelle Konsequenzen mit sich. Mikrobiom und Stoffwechselanalysen im Stuhl von CED-Patient*innen haben gezeigt, dass die Störung des Mikrobioms oft zu einer Anreicherung von Wirtsmetaboliten und einer Abnahme von mikrobiellen Stoffwechselprodukten wie zum Beispiel kurzkettigen Fettsäuren führt. Diese kurzkettigen Fettsäuren werden aber im Darm dringend benötigt, denn sie sind beispielsweise für die Energieversorgung spezieller Darmzellen sowie für die Produktion der schützenden Darmschleimhaut essentiell. Zusammenfassend kann man sagen, dass eine Veränderung der mikrobiellen Darmstruktur zu Stoffwechselstörungen mit erheblichen Beeinträchtigungen führen kann. Daher stellt die Modulation der Darm-Mikrobiota durch Ernährung, Antibiotika und Probiotika, zumindest theoretisch, einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz bei der Behandlung von CED dar.[1]

Beeinflussen Infektionen den Verlauf von CED?

Patient*innen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen weisen gegenüber der Normalbevölkerung ein erhöhtes Risiko für Infektionen auf. Weil bei CED oft immunsuppressive beziehungsweise immunmodulatorische Medikamente eingesetzt werden, welche die Funktionen der Immunabwehr dämpfen, sind Infektionen häufig auch Folge der Therapie. Je stärker das Ausmaß der medikamentösen Immunsuppression, desto höher das Infektionsrisiko. Beispiele hierfür sind bakterielle Lungenentzündungen, Influenza-Infektionen oder auch bakterielle Harnwegsinfekte. Neben der erhöhten Anfälligkeit bei CED-Patient*innen verlaufen die Infektionen oft auch schwerer und langwieriger als bei Patient*innen mit intaktem Immunsystem.

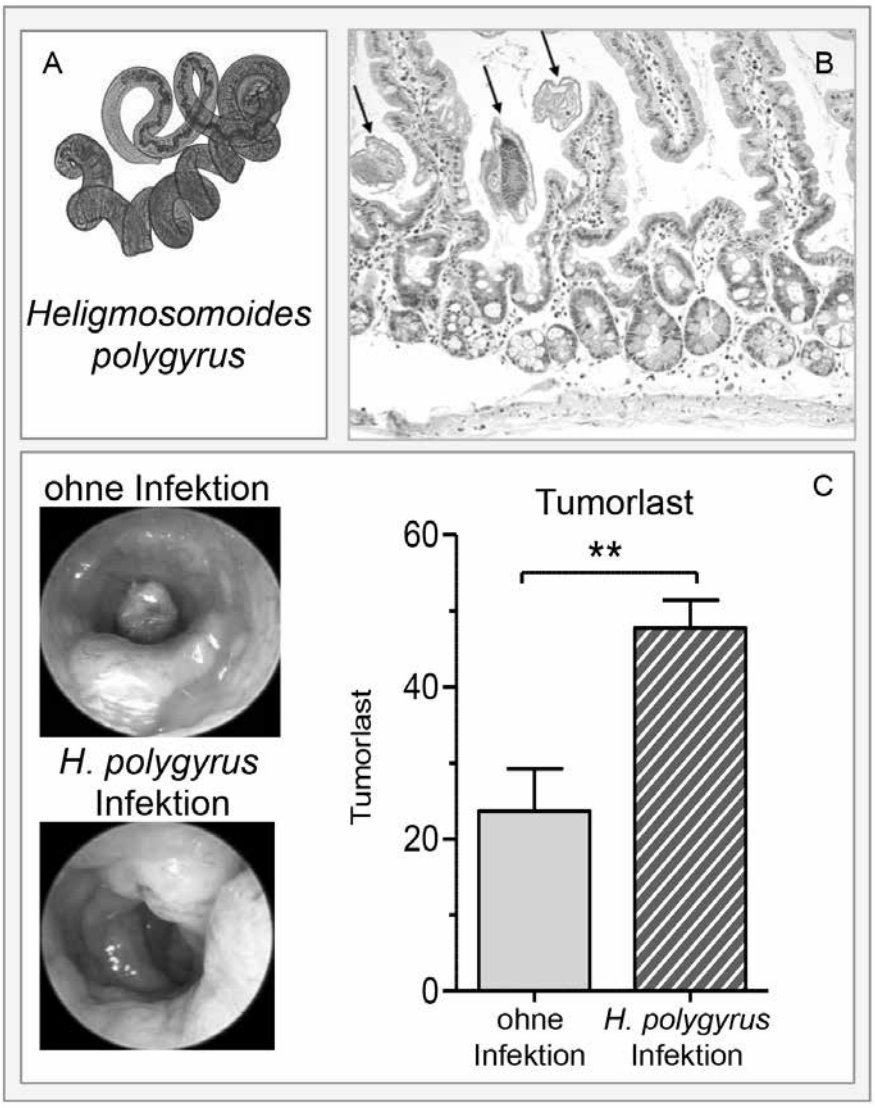
CED-Patient*innen sind zudem für Infektionen mit Erregern, die bei Menschen mit normalem Immunsystem keine oder nur geringe Krankheitserscheinungen hervorrufen, besonders anfällig. Solche Infektionen werden als „opportunistische“ Infektionen bezeichnet. Hierzu zählen beispielsweise die Infektion von Mund und Rachen mit dem Hefepilz Candida. Eine weitere Gefahr von immunsuppressiven Therapien besteht in der möglichen Reaktivierung von im Körper bereits vorhandenen, vor Immunsuppression klinisch aber inapparenten Infektionen. Beispiele für solche Infektionen sind die Reaktivierung des Windpockenvirus in Form der Gürtelrose, wiederkehrende und schwer verlaufende orale oder genitale Herpesinfektionen, die Reaktivierung einer chronischen Hepatitis B und die Aktivierung einer latenten Tuberkulose.[8]

Infektionen mit *Clostridium (C.) difficile* stellen ein sehr anschauliches Beispiel dafür dar, wie die Einnahme bestimmter Medikamente und ein geschwächtes Immunsystem bakterielle Infektionen begünstigen können. *C. difficile* ist ein Gram-positives anaerobes Bakterium, das bei gesunden Menschen große Schwierigkeiten hat, ökologische Nischen im Gastrointestinaltrakt zu finden, denn im Regelfall wird ihr Wachstum durch „gute“ kommensale Bakterien unterdrückt. Die Manipulation der intestinalen mikrobiellen Gemeinschaft durch die Einnahme von Antibiotika oder Protonenpumpen-Inhibitoren in Kombination mit langen Krankenhausaufenthalten begünstigt das Wachstum von *C. difficile*. Das Krankheitsspektrum einer *C. difficile*-Infektion unterscheidet sich nicht sonderlich von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen. Daher spricht man bei *C. difficile*-Infektion auch von einer bakteriell-vermittelten Colitis. Interessanterweise sind CED-Patient*innen eine große Risikogruppe für *C. difficile*-Infektionen. Die Inzidenz liegt zwischen 5,1 Prozent und 16,7 Prozent.[9] Der genaue Grund für dieses erhöhte Risiko ist noch nicht eindeutig verstanden. Am wahrscheinlichsten aber sind die intestinale Dysbiose und die gestörten Immunantworten von CED-Patient*innen für den Ausbruch dieser Infektionen verantwortlich. Unglücklicherweise verschlimmern die sich überlappenden Symptome beider Erkrankungen zusätzlich die Risiken für Komplikationen und erhöhen in vielen Fällen den therapeutischen Aufwand.

Wie so oft, werden auch bei den *C. difficile*-Infektionen Ursachen mit Ursachen bekämpft. Häufig greift man daher zu einer Kombination aus Antibiotika, die jedoch oftmals zu rezidivierenden Infektionen führt. Eine ungewöhnliche, aber sehr effektive therapeutische Lösung bei rezidivierenden *C. difficile*-Infektionen stellt die Stuhltransplantation (auch fäkaler Mikrobiomtransfer; FMT) dar. Die Idee dahinter ist, Faeces oder fäkale Bestandteile einer*s gesunden Spender*in in den Gastrointestinaltrakt der*s Patient*in einzuführen, um so das bakterielle Gleichgewicht im Darm wiederherzustellen. Der Therapieerfolg von FMT bei wiederkehrenden *C. difficile*-Infektionen liegt bei über 90 Prozent und stellt daher eine scheinbar sehr effektive, schnelle und vergleichsweise kostengünstige Heilungsmethode dar. Fäkale Bakterientherapien scheinen auch bei CED-Patient*innen, die an *C. difficile*-Infektionen erkranken, wirkungsvoll zu sein. Unglücklicherweise berichten diese Patient*innen jedoch nach der Therapie von zunehmenden intestinalen Entzündungsschüben.[9]

Unabhängig davon scheint FMT dennoch eine vielversprechende Therapieform bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen zu sein, auch wenn derzeit nur wenige Daten die tatsächliche Effektivität von FMT bei CED untermauern. In einer vielversprechenden Fallstudie von 2015 beispielsweise konnte gezeigt werden, dass der Transfer von Stuhl einer*s bestimmten Spender*in nach sechs Wochen zur Remission bei Patient*innen mit Colitis ulcerosa führte.[1] Andere Studien, die an diesen Erfolg anknüpfen wollten, scheiterten hingegen. Diese scheinbar paradoxen Ergebnisse untermauern die Komplexität dieser Therapieform und verhindern derzeit die routinemäßige Anwendung in der Praxis, denn aus wissenschaftlicher Sicht sind die Wirkungsspektren der Bakteriotherapie und mögliche Langzeitfolgen noch völlig unbekannt. Nichtsdestotrotz wird sich in naher Zukunft sicherlich unsere Sichtweise von Bakterien als rein krankheitsbringende Pathogene, hin zu effektiven Helfern, die den Erhalt unserer Gesundheit unterstützen, ändern. Die Forschung in diesem Bereich steckt allerdings noch in ihren Kinderschuhen, und FMT ist vermutlich nur der Anfang. In Zukunft wird sich also zeigen müssen, welche bakteriellen Stämme oder bakteriellen Bestandteile sich als tatsächlich nützlich für die Behandlung von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und anderen Erkrankungen erweisen.

Um besser zu verstehen, wie verschiedene mikrobielle Gemeinschaften die Anfälligkeit des Wirts gegenüber Infektionen beeinflussen, greifen Forscher*innen gerne auf Mausmodelle zurück. Das *Citrobacter (C.) rodentium*-Infektionsmodell ist zum Beispiel eine gut etablierte Methode, um Mechanismen einer bakteriell-induzierten Colitis im Mausmodell zu studieren.[10] *C. rodentium* ist eng verwandt mit *Escherichia coli* und gehört somit zu den Enterobacteriacae. Die Kolonisierung des Darms wird durch das Bakterium mittels eines sogenannten „attaching/effacing“ (A/E)-Läsionsmechanismus durchgeführt. Dieser Mechanismus wird vom Bakterium verwendet, um sich an der apikalen Oberfläche der Enterozyten festzusetzen. Die Infektion, die durch *C. rodentium* verursacht wird, ist nicht-invasiv und betrifft vornehmlich die epitheliale Oberfläche im



(4) **Die Infektion mit Heligmosomoides (H.) polygyrus verändert den Verlauf von Darmkrebs.**
Mäuse wurden mit dem Parasiten H. polygyrus (A) infiziert und einem Protokoll zur Induktion von Darmkrebs unterzogen. (B) Histologische Aufnahmen des Dünndarms. Die Pfeile kennzeichnen die Parasiten im Darmgewebe. (C) 10 Wochen nach der Tumorinduktion wurden koloskopische Untersuchungen durchgeführt und die Tumorlast im Darm bestimmt. Die statistische Signifikanz zwischen den Gruppen wurde mit Hilfe des students T-test analysiert. ** $p < 0{,}01$
Quelle: modifiziert nach Pastille E et al.: Intestinal helminth infection drives carcinogenesis in colitis-associated colon cancer. PLoS Pathog. 2017, 13(9):e1006649.

Kolon. Nach einer Infektion mit *C. rodentium* entwickeln die Mäuse eine Colitis, die durch eine starke Dysbiose gekennzeichnet ist. Mit diesem Modell kann man intestinale Entzündungsreaktionen während einer Colitis im Detail studieren, insbesondere die Interaktionen zwischen dem intestinalen Immunsystem, der Mikrobiota und den pathogenen Erregern. Wir konnten mithilfe dieses Mausmodells zeigen, dass die Infektion mit einem enteropathogenen Erreger zu einer einer massiven Ausschüttung des antiinflammatorischen Botenstoffs Interleukin-10 im Kolon führt, was für die Kontrolle der Immunantwort wichtig ist.[11] Infiziert man dagegen Mäuse, die kein Interleukin-10 produzieren können, führt dies zu einer massiven Kolonisierung des Darms mit *C. rodentium* und einer unkontrollierbaren bakteriellen Infektion. Inwieweit die durch die Infektion veränderte Darm-Mikrobiota für dieses Phänomen mitverantwortlich ist, ist Gegenstand unserer aktuellen Forschung.

Damit Infektionen mit krankmachenden Mikroorganismen erst gar nicht entstehen, sollten CED-Betroffene insgesamt gewisse Hygieneregeln einhalten. Doch, wie so oft, gibt es vermutlich auch bei der Hygiene eine Kehrseite der Medaille. In den industrialisierten Ländern kommt es zu einer massiven Zunahme von Allergien, Autoimmunerkrankungen und chronisch-entzündlichen Erkrankungen. Als eine mögliche Ursache dieses Phänomens wurde die „Hygiene-Hypothese“ formuliert.[12] Die tiefgreifenden Veränderungen im Gesundheitswesen und in unserer Umwelt haben in den zivilisierten Ländern zu einer Art Sterilisierung der Lebensräume geführt. Unser Immunsystem wird deshalb während der Kindheit mit immer weniger Antigenen von bakteriellen, parasitären und viralen Erregern konfrontiert. Diese zunehmende Sauberkeit übt gemäß der Hygiene-Hypothese einen negativen Einfluss auf die Entwicklung

eines ausgewogenen Immunsystems aus und führt dazu, dass sich das Immunsystem gegen unser eigenes Gewebe oder andere, eigentlich harmlose Stoffe, wie Pollen und Nahrungsmittel, richtet. Der Rückgang der Infektionskrankheiten in einer Gesellschaft führt demnach gleichzeitig zu einer Zunahme der immunologischen Erkrankungen. Die Hygiene-Hypothese wird unter anderem von epidemiologischen Daten gestützt. Es wurde beobachtet, dass Stadtkinder durch den fehlenden Kontakt mit alltäglichen Krankheitserregern ein erhöhtes Risiko aufweisen, allergische Erkrankungen zu entwickeln. Vor allem das Aufwachsen auf einem Bauernhof scheint sich positiv auf die Entwicklung eines gesunden Immunsystems auszuwirken. Auch bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wurde dem Landleben eine „protektive Eigenschaft" zugewiesen, denn in ländlichen Regionen kommen weniger CED vor als in Städten. Übereinstimmend treten chronisch-entzündliche Darmerkrankungen weltweit größtenteils in den entwickelten Industriestaaten mit hohen Hygienestandards auf. In den Entwicklungsländern Afrikas und Südamerikas hingegen, in denen es eine hohe Durchseuchung der Bevölkerung mit Parasiten wie zum Beispiel mit Helminthen (Würmer) des Magen-Darm-Traktes gibt, stellen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa seltene Erkrankungen dar. Die Idee, dass umgekehrt eine gezielte Infektion mit Helminthen als Therapie bei CED eingesetzt und Krankheitssymptome lindern könnte, beschäftigt daher seit vielen Jahren immer mehr Mediziner*innen und Biolog*innen. In den letzten Jahren sind somit eine Reihe von Helminthen-Mausmodellen etabliert worden, um die durch die Parasiten hervorgerufene Immunantwort zu charakterisieren. Es wurde gezeigt, dass Helminthen das Immunsystem und die Mikrobiota ihrer Wirte modulieren. Im Gegensatz zu Infektionen mit Bakterien, Viren oder Pilzen, induzieren Helminthen eine Th2-Immunantwort, die durch Eosinophile, erhöhte IgE-Werte und die Produktion von Th2-assoziierten Botenstoffen wie Interleukin-4, Interleukin-5 und Interleukin-13 gekennzeichnet ist. Diese Immunreaktion ist nicht nur eine Abwehrreaktion gegen den Wurmbefall, sondern wirkt auch hemmend auf die Th1-Immunantworten, die wiederum Entzündungsreaktionen begünstigen. Zusätzlich etabliert der Parasit durch die Sekretion von Botenstoffen ein immunsuppressives Milieu aus regulatorischen T-Zellen, alternativ aktivierten Makrophagen und den antiinflammatorischen Botenstoffen wie Interleukin-10 und *transforming growth factor beta* (TGF-β).[13] Inwieweit die Veränderung der Mikrobiota durch die Wurminfektion an der Modulation des Immunsystems beteiligt ist, ist Gegenstand derzeitiger Forschung. Nichtdestotrotz entsteht durch die Helminthen-Wirt-Interaktion ein Gleichgewicht zwischen proentzündlichen und antientzündlichen Faktoren. Eine Wurminfektion könnte daher das Zünglein an der Waage sein, um das Gleichgewicht zwischen Th1 und Th2 im Normbereich zu halten.

Diesen wegweisenden immunologischen Studien folgte eine Vielzahl von Versuchen, in denen Mäuse mit Würmern infiziert oder mit Wurmkomponenten behandelt wurden. Dabei wurde festgestellt, dass sowohl der Kontakt mit lebenden Parasiten als auch mit Parasitenmaterial verschiedenste Entzündungsreaktionen modulieren kann. Behandelte Mäuse hatten unter anderem schwächere Allergien oder eine weniger starke Colitis als entsprechende Kontrolltiere. In vielen Fällen war die schwächere Entzündungsreaktion auf den Botenstoff Interleukin-10 zurückführbar. Auch regulatorische T-Zellen und immunmodulierende dendritische Zellen sowie regulatorische Makrophagen wurden als Wirkprinzipien identifiziert. Es ist aber wichtig zu betonen,

Terminologie

Mikrobiota: Gesamtheit der uns besiedelnden Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Pilze, Eukaryoten und Archaeen)

Mikrobiom: Gesamtheit aller Gene der uns besiedelnden Mikroorganismen

kommensale Darmbakterien: Organismen, die sich von unserer Nahrung ernähren, ohne uns dabei zu schaden

spp.: Abkürzung für species pluralis. *Bifidobacterium* spp. bedeutet, dass mindestens zwei verschiedene, nicht bestimmte Arten der Gattung Bifidobacterium vorhanden sind.

Dysbiose: Gestörtes Gleichgewicht zwischen Bakterienarten im Darm

Probiotika: Lebendige Mikroorganismen, die nach Verabreichung eine positive Wirkung auf unsere Gesundheit haben.

Fakten zu Morbus Crohn und Colitis ulcerosa[6]

Gemeinsame Symptome: Durchfall, Krämpfe, Fieber, Gewichtsverlust

Morbus Crohn

Inzidenz: 3,1 bis 20,2 Fälle pro 100.000 Individuen pro Jahr

Lokalisation: Gesamter Gastrointestinaltrakt, hauptsächlich aber distales Ileum und Kolon

Pathologie: Diskontinuierlich mit unregelmäßigen Entzündungsherden

Histologie: Transmural (alle Schichten des Darms)

Mögl. Folgen: Verengung von Blutgefäßen, Abszesse, Fisteln, selten Darmkrebs

Colitis ulcerosa

Inzidenz: 2,2 bis 19,2 Fälle pro 100.000 Individuen pro Jahr

Lokalisation: Kolon

Pathologie: Durchgehende Entzündung ausgehend vom Rektum

Histologie: Oberflächliche Entzündung (Mukosa)

Mögl. Folgen: Starkes Bluten, toxisches Megacolon, Darmdurchbruch, Darmkrebs

Astrid M. Westendorf. Foto: Vladimir Unkovic

dass nicht in allen Maus-Studien zur Wurmtherapie ein positiver Effekt auf den Krankheitsverlauf festgestellt werden konnte. *Heligmosomoides polygyrus* ist ein natürlicher Maus-Magen-Darm-Wurm, der große Homologien mit den vorherrschenden menschlichen Wurmparasiten aufweist. Wir können in einer aktuellen Studie zeigen, dass die immunmodulierende Wirkung der Parasiten den Verlauf von entzündungsvermitteltem Darmkrebs im Mausmodell verschlechtern kann (Abb. 4).[13] Detaillierte Untersuchungen dazu haben ergeben, dass die Infektion mit dem Parasiten nicht nur zu einer Anreicherung von regulatorischen T-Zellen führt, sondern auch zur Ausschüttung entzündungsfördernder Botenstoffe im Kolon, die die Karzinogenese fördern.

Die Daten aus den Mausmodellen haben dennoch motiviert, die Übertragbarkeit auf den Menschen zu überprüfen. Wissenschaftler*innen aus den USA haben dazu Anfang 2000 Pionierarbeit geleistet. Sie verabreichten Patient*innen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, die auf die konventionelle Therapie nicht ansprachen, mehrere tausend Eier des Schweinepeitschenwurms (*Trichuris suis*). Diese schlüpfen im menschlichen Körper und sterben nach zwei Tagen wieder ab, da ihnen die Voraussetzungen fehlen, länger im Menschen zu überleben. Dabei werden Botenstoffe und Parasitenbestandteile freigesetzt, die das Immunsystem des Wirtes modulieren können. Interessanterweise zeigten diese Studien ein überraschend gutes Ergebnis. Sowohl bei Patient*innen mit Colitis ulcerosa wie auch bei Morbus Crohn-Patient*innen verbesserte sich die Erkrankung im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Allerdings wurden zwei größere, Placebo-kontrollierte klinische Studien zur Wirkung von *Trichuris suis*-Eiern auf Morbus Crohn in Europa beziehungsweise den USA wegen mangelnder Wirksamkeit abgebrochen. Sie umfassten 252 beziehungsweise 212 Patient*innen mit milder bis moderater Ausprägung der Krankheit. Die Therapie verbesserte das Krankheitsbild, allerdings trat auch in den Placebo-Gruppen bei über 40 Prozent der Patient*innen ein positiver Effekt auf. Aufgrund dieser außergewöhnlich hohen Placebo-Wirkung waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Wurm- und Placebo-Gruppe festzustellen.[14,15] Die Gründe hierfür können vielfältig sein und sind nicht abschließend geklärt. Die Praxis zeigt, dass die Wurmtherapie sicherlich nicht jedem Menschen gleichermaßen helfen kann, da nicht jede Person in gleicher Weise auf die von Wurmlarven ausgesendeten Signale zur Immunsuppression anspricht. Auch ist nicht von vornherein zu erwarten, dass sich das Immunsystem durch die Würmer dauerhaft modulieren lässt, vielmehr könnte es sich um einen vorübergehenden Effekt handeln. Voraussetzung für den therapeutischen Einsatz von Würmern oder Wurmeiern ist allerdings ein detailliertes Verständnis des Infektionswegs und der Wechselwirkung mit dem intestinalen Immunsystem. Ein sehr interessanter Aspekt ist zudem, welche Rolle die intestinale Mikrobiota bei diesem Wechselspiel einnimmt. Davon abgesehen wurden mittlerweile molekular definierte Wirkstoffe aus parasitischen Würmern in Mausmodellen identifiziert. In aufwendigen Experimenten wurden die Wirkmechanismen und die Zielstrukturen dieser Wirkstoffe im Immunsystem der Mäuse bestimmt. Dabei sind hoch potente Moleküle beschrieben worden, die zurzeit für den Einsatz an Patient*innen geprüft werden. Wenn es gelänge, mit diesen Wirkstoffen ganz spezifisch bestimmte unerwünschte Immunantworten zu modulieren, könnte man den Ansatz der Infektion umgehen und einen genau definierten und eleganten Weg der Therapie von Autoimmunerkrankungen wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa erschließen.

Fazit

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die intestinale Mikrobiota einen entscheidenden Einfluss auf unser Wohlbefinden hat – sowohl positiv als auch negativ. Ob die Mikrobiota nun Teil des Problems oder die Lösung bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen ist, lässt sich nicht pauschal beantworten; vermutlich trifft beides zu. Obwohl die Vielzahl an wissenschaftlichen Veröffentlichungen suggeriert, dass sich unser Wissen auf diesem Gebiet in den letzten zehn Jahren exponentiell erweitert hat, steht die Forschung nach wie vor am Anfang. Intensive, fortlaufende Untersuchungen in der Zukunft werden zeigen, in wie weit wir die intestinale Mikrobiota und andere Mikroben zu unseren Gunsten nutzen werden.

Summary

The human intestine is colonized by a multitude of microbes such as bacteria, viruses, archaea, fungi and other eukaryotes. It is a complex and dynamic ecosystem established during the first years of life. The availability of new sequencing technologies and bioinformatic methods has made it possible to analyze the human microbiome quickly and affordably at the molecular level. These molecular analyses of the 16S-ribosomal RNA have increased previous culture-dependent estimates of the total microbiota from 200 to 300 species to up to 1800 genera with up to 36,000 species. Importantly, the microbial composition can be influenced by various factors such as nutrition, stress and medication. Therefore, the exact composition of intestinal microbiota is as unique as the fingerprint. Inflammatory bowel diseases (IBD), including ulcerative colitis and Crohn's disease, are chronic and relapsing inflammatory disorders

of the intestine. Although their incidence is increasing globally, the precise etiology remains unclear, and a cure for IBD has yet to be discovered. The most accepted hypothesis of IBD pathogenesis is that complex interactions between genetics, environmental factors, the microbiota, and the host immune system lead to aberrant immune responses and chronic intestinal inflammation. Recent studies have shown that a shift in the composition of the microbiome can also be observed in patients with chronic inflammatory bowel diseases. In addition, the incidence of intestinal infections has increased over the past 15 years among hospitalized IBD patients, primarily driven by Clostridium difficile infections. Thus, fecal microbial transplantation (FMT) is currently emerging as one of the more promising microbiome-modulating IBD therapies. It cannot be answered in general terms whether the microbiota is friend or foe of IBD; presumably both is true. Prospective studies that are focusing on the gut microbial composition, the epithelial integrity and the mucosal immune system in IBD are therefore warranted to shed light on this question in more detail. Although the large number of scientific publications suggests that our knowledge in this field has exponentially expanded over the past 10 years, research is still in its infancy. Intensive ongoing research in the future will show to what extent we will use the modulation of the intestinal microbiota for human health.

Anmerkungen/Literatur

1) Ishiguro E, Haskey N, Campbell K: Gut microbiota – Interactive Effects on Nutrition and Health. Academic Press. Elsevier Inc. United Kingdom, 2018, 208
2) Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C: The healthy human microbiome. Genome Medicine. 8/ 2016, doi: 10.1186/s13073-016-0307-y
3) Mowat AM, Agace WW: Regional specialization within the intestinal immune system. Nature Reviews Immunology. 14/2014, 667–685
4) Thorburn AN, Macia L, Mackay CR: Diet, Metabolites, and "Western-Lifestyle" Inflammatory Diseases. Immunity, 6/2014, 833–842
5) Adamczyk A, Gageik D, Frede A, Pastille E, Hansen W, Rueffer A, Buer J, Büning J, Langhorst J, Westendorf AM: Differential expression of GPR15 on T cells during ulcerative colitis. JCI Insight. 2/2017, e90585
6) Marsal J, Agace WW: Targeting T-cell migration in inflammatory bowel disease. Journal of Internal Medicine. 2012, doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02588.x.
7) Neurath MF: Cytokines in inflammatory bowel disease. Nature Reviews Immunology. 14/ 2014, 329–342
8) Epple HJ: Infektionen bei CED. Bauchredner, BR1/ 2011, 46–49
9) D'Aoust J, Battat R, Bessissow T: Management of inflammatory bowel disease with Clostridium difficile infection. World Journal of Gastroenterology. 23/ 2017, 4986–5003
10) Meiners J, Palmieri V, Klopfleisch R, Ebel JF, Japtok L, Schumacher F, Yusuf AM, Becker KA, Zöller J, Hose M, Kleuser B, Hermann DM, Kolesnick RN, Buer J, Hansen W, Westendorf AM: Intestinal Acid Sphingomyelinase Protects From Severe Pathogen-Driven Colitis. Frontiers in Immunology. 2019, 10:1386
11) Seiffart V, Zoeller J, Klopfleisch R, Wadwa M, Hansen W, Buer J, Riedel C, Westendorf AM: IL10-Deficiency in CD4+ T Cells Exacerbates the IFN-γ and IL17 Response During Bacteria Induced Colitis. Cellular Physiology and Biochemistry. 36/ 2015, 1259–1273
12) Strachan DP: Hay fever, hygiene, and household size. British Medical Journal. 1989;299: 1259-60
13) Pastille E, Frede A, McSorley HJ, Gräb J, Adamczyk A, Kollenda S, Hansen W, Epple M, Buer J, Maizels RM, Klopfleisch R, Westendorf AM: Intestinal helminth infection drives carcinogenesis in colitis-associated colon cancer. PLoS Pathog. 2017, 13(9):e1006649
14) Summers RW, Elliott DE, Urban JF Jr, Thompson RA, Weinstock JV: Trichuris suis therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial. Gastroenterology. 2005 Apr;128(4):825–32
15) Summers RW, Elliott DE, Urban JF Jr, Thompson R, Weinstock JV. Trichuris suis therapy in Crohn's disease. Gut. 2005 Jan;54(1):87–90

Die Autorinnen

Alexandra Adamczyk studierte von 2008 bis 2013 Medizinische Biologie an der Universität Duisburg-Essen. 2013 forschte sie im Rahmen ihrer Masterarbeit am National Institute for Medical Research in London und beendete 2013 ihr Masterstudium mit Auszeichnung. Von 2013 bis 2017 verfasste sie ihre Doktorarbeit am Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums in Essen, die sie mit summa cum laude abschloss. Während ihres Promotionsstudiums war sie Mitglied des DFG-geförderten Graduiertenkollegs 1949 (Immunantwort in Infektionskrankheiten – Regulation zwischen angeborener und erworbener Immunität). Für ihre außerordentlichen Leistungen im Rahmen ihrer Doktorarbeit erhielt sie 2017 den Scientific Excellence Award des GRK 1949. Außerdem wurde sie 2016 mit dem Nachwuchsförderpreis der Deutschen Gesellschaft für Mukosale Immunologie und Mikrobiom (DGMIM) e.V. ausgezeichnet. Im Anschluss an ihre Promotion bewarb sich Alexandra Adamczyk 2017 erfolgreich um ein Stipendium des Nachwuchsförderungsprogramm (BIOME Postdoctoral Excellence Programm; BIOME-PEP) der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen. Seither arbeitet sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Fakultät an der Universität Duisburg-Essen. Sie ist assoziiertes Mitglied des GRK 1949 und forscht aktiv im Bereich der mukosalen Immunologie und Infektionsimmunologie.

Astrid M. Westendorf ist Professorin für Infektionsimmunologie an der Universität Duisburg-Essen. Nach ihrer Promotion in Biologie am Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung/Technische Universität Braunschweig im Jahr 2004, ging sie 2006 als Postdoc an das National Institute for Medical Research in London. 2008 nahm sie die Position als Juniorprofessorin für Mukosale Immunologie an der Universität Duisburg-Essen an, wo sie im Jahr 2012 als Professorin auf den Lehrstuhl für Infektionsimmunologie berufen wurde. Seit 2014 ist sie Sprecherin des DFG-geförderten Graduiertenkollegs „Immune Response in Infectious Diseases – Regulation between Innate and Adaptive Immunity" und gewähltes Mitglied der Forschungskommission der Universität Duisburg-Essen. Wissenschaftlich beschäftigt sie sich mit den Mechanismen, die für die Induktion und Kontrolle von mukosalen Immunantworten verantwortlich sind. Sie entwickelt Nanopartikel-basierte Ansätze zur Modulation des mukosalen Immunsystems und untersucht, inwieweit eine Darmentzündung die Entstehung von Darmkrebs beeinflusst. Für ihre wissenschaftlichen Arbeiten wurde sie 2008 mit dem Robert-Koch-Postdoktorandenpreis ausgezeichnet; 2017 erhielt sie den Preis für „Medizin und Wissenschaft" der Stadt Essen für ihren Beitrag zur interdisziplinären Entwicklung von Nanopartikeln zur Behandlung chronischer Entzündungen.

"It takes all the running you can do, to keep in the same place.
If you want to get somewhere else, you must run at least twice as fast as that!"
Die Rote Königin zu Alice in Lewis Carrolls Through the Looking-Glass, and What Alice Found There

Im Rennen der Roten Königin

Evolutionäres Wettrüsten zwischen Herpesviren und ihren Wirten

Von Mirko Trilling

Viren sind zwangsläufig intrazellulär replizierende Erreger, die Infektionskrankheiten auslösen und deshalb von größter medizinischer Bedeutung sind. Im Laufe des Lebens wird jeder Mensch von unzähligen Viren infiziert. Einige Virusarten lösen dabei nur relativ milde Symptome aus oder werden von gesunden Individuen gar nicht bemerkt, so dass nur selten Ärzt*innen konsultiert oder Krankenhäuser aufgesucht werden. Andere Viren verursachen schwere Symptome und führen regelmäßig zu lebensbedrohlichen Krankheitsverläufen. Zur letzten Kategorie gehören zum Beispiel Infektionen mit Erregern von hämorrhagischem Fieber wie dem Ebola-Virus. Aber auch Viren, die von Lai*innen oft zu Unrecht unterschätzt werden, wie die Erreger von Influenza, Masern und Tollwut, verursachen weltweit tausendfach Krankheiten und Todesfälle. Laut Robert-Koch-Institut kam es im Jahr 2017 alleine in Deutschland zu mehr als 245.000 meldepflichtigen Virusinfektionen[1]. Besonders tragisch ist es, wenn eigentlich sichere, effiziente und günstige Impfstoffe verfügbar sind. Es ist für Infektiolog*innen nur sehr schwer zu ertragen, dass durch wirtschaftliche Not in Entwicklungsländern und Impfmüdigkeit in Industrienationen impfpräventable Krankheiten jährlich tausende Todesopfer fordern. Neben Infektionserkrankungen tragen Viren auch zur Entstehung von zahlreichen Krebserkrankungen bei. So geht man davon aus, dass mehr als ein Sechstel aller Tumorerkrankungen mit einer Infektion assoziiert ist und etwa ein Achtel mit einer Virusinfektion[2].

Was macht Viren aus?

Im Vergleich zu unseren Zellen sind Viren physisch sehr klein und besitzen um Zehnerpotenzen weniger

Mirko Trilling. Foto: Vladimir Unkovic

Erbmaterial. Die geringe Kodierungskapazität kompensieren Viren, indem sie die infizierte Wirtszelle in vielen Belangen ausnutzen. Bereits kurz nach dem Eintritt des Virus' wird die geenterte Zelle gezwungen, die meisten biochemischen Prozesse in den Dienst der Bildung neuer Viruspartikel zu stellen. Einige Viren gehen sogar so weit, dass sie die Synthese zellulärer Proteine komplett abschalten und nur noch die Translation viraler Proteine zulassen. Außerdem kommt es durch viele Virusinfektionen zu zytopathischen Effekten, bei denen die Struktur und Morphologie der Zelle massiv beeinträchtigt wird, so dass infizierte Gewebe und Organe ihre Funktionen nicht mehr erfüllen können. Als Reaktion auf die lebensbedrohlichen Folgen haben die Wirtsorganismen im Laufe der Evolution und unter dem ständigen Selektionsdruck, der durch Viren und andere Pathogene ausgeübt wird, ausgefeilte Abwehrmechanismen entwickelt, die man zusammengenommen als Immunsystem bezeichnet.

Das Immunsystem

Das Immunsystem wird traditionell in einen angeborenen und einen erworbenen Teil unterteilt, je nachdem ob die Abwehrmechanismen zu Beginn einer Infektion bereits zur Verfügung stehen (z.B. Interferone und natürliche Killerzellen) oder zeitversetzt ausgebildet werden (z.B. virusspezifische T- und B-Lymphozyten). Man spricht diesbezüglich auch von der innaten respektive adaptiven Immunität. Während die innate Immunität innerhalb von Minuten bis Stunden auf die Anwesenheit von Fremdmolekülen reagiert, dauert es einige Tage, bis eine adaptive Immunantwort entwickelt wird. Heute weiß man, dass beide Systeme eng miteinander verzahnt sind und gemeinschaftlich und in gegenseitiger Abhängigkeit agieren. Die Wechselwirkungen zwischen angeborener und erlernter Immunität stellen den Hauptforschungsschwerpunkt des DFG-geförderten Graduiertenkollegs 1949 dar. Die innate Immunität reagiert über keimbahnkodierte Rezeptoren (z.B. Toll-like Rezeptoren) auf sogenannte pathogenassoziierte molekulare Muster (engl. *pathogen-associated molecular pattern:* PAMP). PAMPs sind in der Regel unveränderliche Bestandteile der Pathogene wie zum Beispiel die Bausteine der bakteriellen Zellwand oder Zwischenprodukte der viralen Genomreplikation, die im gesunden Wirt entweder gar nicht vorkommen oder grundsätzlich anders lokalisiert sind. Werden PAMPs von PAMP-erkennenden Rezeptoren der Wirtzelle gebunden, wird über komplexe Signalwege ein Genexpressionsprogramm induziert, das den gesamten Organismus in Abwehrbereitschaft versetzt. Dafür werden lösliche Botenstoffe wie Interferone ausgeschüttet, die Zellen vor Viren warnen. Durch Interferone wird das Immunsystem in Alarmbereitschaft versetzt und die Zellen gehen in einen antiviralen Zustand über. Interferone wirken also wie eine molekulare Alarmanlage, die auf Eindringlinge reagiert. Alle kernhaltigen Zellen besitzen Rezeptoren für Interferone. Binden Interferone an diese Rezeptoren, werden innerhalb der Zellen rezeptorassoziierte Enzyme (sog. Januskinasen) aktiv, die wiederum Signalüberträger und Aktivatoren der Transkription (engl. *signal transducer and activator of transcription*: STAT) modifizieren. Aktive STAT-Proteine wandern in den Zellkern und verändern die Genexpression der Zelle, so dass von nun an hauptsächlich antivirale und immunstimulatorische Proteine gebildet werden[3]. Man mag sich natürlich fragen, warum Zellen die schützenden Proteine nicht einfach fortwährend bilden, sondern die Produktion erst im Infektionsfall hochfahren. Wahrscheinlich liegt das daran, dass die interferonstimulierten Proteine auch für den Wirt nachteilige Wirkungen haben. So geht ein großer Teil des Krankheitsgefühls bei einer Infektionserkrankung nicht direkt auf den Erreger zurück, sondern ist die Folge der Interferonwirkung. Individuen, die eine krankhaft gesteigerte Interferonsekretion zeigen, leiden unter Autoimmunerkrankungen – sogenannte Interferonopathien[4]. Patient*innen, die Interferone als Medikamente verabreicht bekommen, zeigen unter anderem grippeartige Nebenwirkungen und leiden häufig an Depressionen.

Erworbene Immunität

Der Sinn des angeborenen Immunsystems ist es, die Virusreplikation zu verzögern, um Zeit für die Entwicklung einer adaptiven Immunantwort zu erkaufen. Anders als bei der angeborenen Immunität kommt es bei der erworbenen Immunantwort über Variabilität, Selektion sowie anschließender Vervielfältigung zu einer enormen Vermehrung von Immunzellen, die Makromoleküle eines bestimmten Erregers hochspezifisch erkennen. Das Vorhandensein des Fremdmoleküls aktiviert die Immunzellen und führt letztendlich zu einer gezielten zytotoxischen Reaktion, welche die infizierten Zellen abtötet. Ist die Infektion erfolgreich abgewehrt worden, entwickelt sich ein Teil der Immunzellen weiter und bildet ein langanhaltendes immunologisches Gedächtnis. Im Fall einer erneuten Infektion mit dem gleichen Erreger reagieren die Gedächtniszellen deutlich schneller, so dass die Krankheit meist grundsätzlich abgewendet oder zumindest stark abgemildert werden kann. Das immunologische Gedächtnis ist somit dafür verantwortlich, dass wir an vielen Infektionskrankheiten nur ein einziges Mal erkranken. Da die ersten symptomatischen Episoden häufig früh in der Entwicklung ablaufen, spricht man in diesem Fall auch von Kinderkrankheiten. Bei aktiven Impfungen macht man sich die Bildung eines immunologischen Gedächtnisses zunutze, indem man gezielt abgeschwächte Erreger oder deren Bestandteile verabreicht. Da

die Erreger abgeschwächt oder abgetötet sind beziehungsweise nur Bruchstücke genutzt werden, verursacht die Impfung in der überwiegenden Mehrheit aller Fälle keine Krankheit. Es wird aber trotzdem eine Immunreaktion und ein immunologisches Gedächtnis ausgebildet, das anschließend die Infektion mit dem gefährlichen Pathogen verhindert und der Krankheit vorbeugt.

Viren: Meister der Anpassung

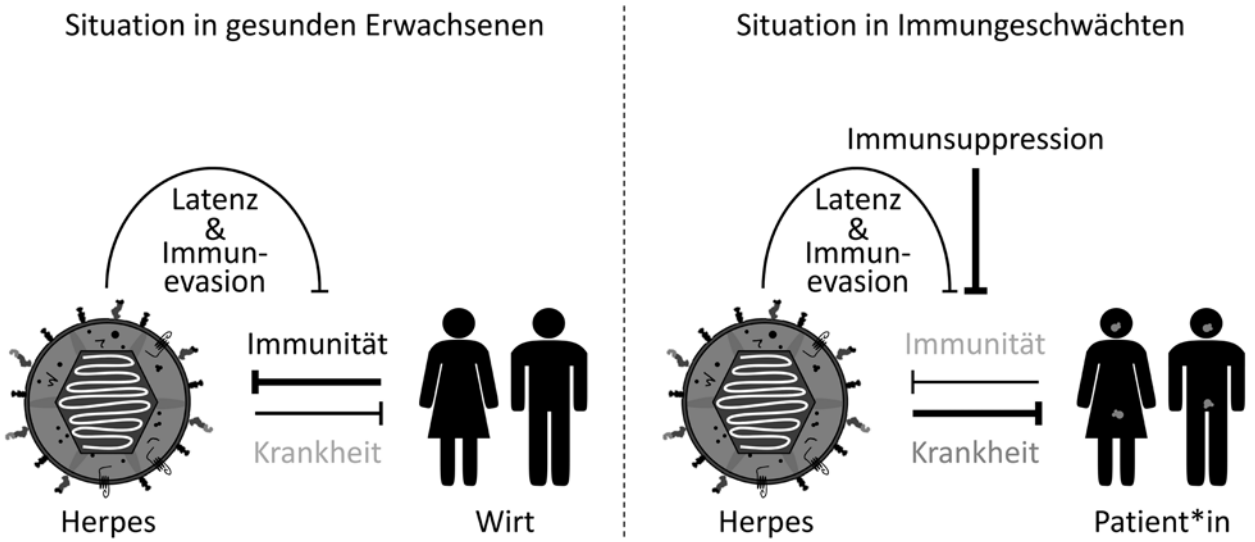
Im Laufe unseres Lebens bewahrt uns unser Immunsystem über diese Mechanismen vor zahllosen Krankheitsepisoden. Allerdings stehen Viren und ihre Wirte in einem endlosen evolutionären Wettstreit. In der Wirtspopulation setzen sich präferenziell Individuen und ihre Nachkommen durch, die sich etwas besser gegen relevante Infektionen schützen können, so dass das Immunsystem über die Generationen hinweg sukzessive optimiert wird. Der steigende Selektionsdruck, den das Immunsystem auf Pathogene ausübt, führt jedoch gleichzeitig zu einer ständigen Selektion von Erregervarianten, die trotz der Immunantworten replizieren können. Dies führt zu einer sukzessiven „Zuchtauswahl" der am besten angepassten Viren und so zu einer graduellen Optimierung der viralen Immunevasionsmechanismen. Das Immunsystem und die viralen Gegenmaßnahmen verbessern sich also zwangsläufig gegenseitig. Unangepasste Wirte versterben an den Infektionen beziehungsweise haben weniger Nachkommen, während Virenvarianten eliminiert werden, die sich dem Immunsystem nicht in ausreichendem Maße entziehen können. Neuzeitliche Erreger wären deshalb sicher lebensbedrohlich für unsere stammesgeschichtlichen Vorfahren. Einem umgekehrten Gedankenexperiment folgend, hätte unser aktuelles Immunsystem höchstwahrscheinlich keine großen Schwierigkeiten, frühzeitliche Pathogene zu eliminieren. Die in der Unterhaltungsliteratur gelegentlich beschworene Angst vor urzeitlichen Krankheitserregern ist deshalb sicher unbegründet. Die rezenten Erreger sind nach diversen Auseinandersetzungen mit unserem Immunsystem evolutionär deutlich besser angepasst und stellen eine viel größere Herausforderung für unser Immunsystem dar.

Viren haben bei dem Wettrüsten zwei gewichtige Vorteile auf ihrer Seite, die sicher dazu beigetragen haben, dass das Immunsystem in der Vergangenheit nicht die Oberhand gewonnen hat: Viren haben sehr viel kürzere Generationszeiten und deutlich höhere Mutationsraten, so dass sie sich sehr schnell anpassen. Werden neue antivirale Medikamente eingeführt, dauert es deshalb meist nicht sehr lange, bis die ersten resistenten Virusmutanten auftauchen. Genau wie bei der Antibiotikaresistenz von Bakterien benötigen wir deshalb auch bei Viren eine kontinuierliche Medikamentenentwicklung, um durch Resistenzen nutzlos gewordene Substanzen immer wieder durch neue Wirkstoffe ersetzen zu können.

***Jump-'n'-run* oder *hide-and-seek* im ewigen Wettstreit der Viren gegen das Immunsystem**

Man kann zwei grundsätzliche Strategien ausmachen, mit denen Viren unser Immunsystem erfolgreich unterlaufen: (I) Springen und (II) Verstecken. Beim Springen haben es die Viren nur bedingt geschafft, dem adaptiven Immunsystem dauerhaft etwas entgegenzusetzen. Das Pathogen wird in der Regel effizient eliminiert, sobald eine adaptive Immunantwort einsetzt. Der typische Verlauf wird im Volksmund deshalb sehr passend wie folgt beschrieben: „Die Krankheit kommt drei Tage, bleibt drei Tage und geht drei Tage". Dabei nutzt das Virus die Zeitverzögerung bis zum Einsetzen der adaptiven Immunantwort zu seinem Vorteil. Das Virus hat seinen Replikationszyklus bereits abgeschlossen und ist schon auf die nächsten naiven Wirte in der Population übergesprungen, wenn das Immunsystem die Kontrolle nach einigen Tagen zurückgewinnt. Da die Wirte nach der Infektion ein immunologisches Gedächtnis entwickeln, handelt es sich dabei zwangsläufig um eine Strategie der verbrannten Erde. Wurden alle lokal verfügbaren Wirte infiziert, steckt das Virus in einer Sackgasse, da immunologisch-naive Wirte fehlen. Allerdings zeigen Viren, die diese Strategie nutzen, oft eine enorme genetische Variabilität. Durch hohe Mutationsraten, auch als genetische Drift bezeichnet, und/oder den Austausch ganzer Genomteile, auch als genetischer Shift bezeichnet, verändert sich das Virus über die Zeit und wird so für das adaptive Immunsystem wieder „unsichtbar". Auch wenn sich eine solche wiederkehrende Virusinfektion ähnlich anfühlen mag, erkranken wir in diesen Fällen in der Regel nicht wiederholt an dem gleichen Erreger, sondern jeweils an einer immunologisch veränderten Version – also einem anderem Geno- oder Serotyp der gleichen Virusfamilie. Beispiele für Viren mit dieser Replikationsstrategie sind respiratorische Erreger wie Influenza- und Rhinoviren. Aus Sicht einer Impfung führt diese Strategie zu der Besonderheit, dass man entweder gegen viele verschiedene Serotypen parallel impfen muss oder die Impfung immer wieder an veränderte Viren anpassen muss. Wir benötigen also jährlich eine neue Influenzaimpfung, weil häufig andere Influenzaviren zirkulieren.

Bei der alternativen Strategie des Versteckens lässt sich das Virus nicht von dem Immunsystem verdrängen, sondern es verbirgt sich im Wirt – oft in einer Art molekularem Winterschlaf, der sogenannten Latenz. Das Virusgenom bleibt dabei erhalten, es bildet aber keine neuen Viruspartikel. Diese Strategie verfolgen Viren, die persistierende und chronische Infektionsverläufe verursachen wie Herpesviren, Retroviren und einige Hepatitisviren.



(1) Zwischen Herpesviren und ihren Wirten etabliert sich eine besondere Art der Pattsituation (siehe Text), bei der die immunologische Kontrolle das Herpesvirus üblicherweise von der Replikation abhält und so schweren Krankheiten vorbeugt. Durch die viralen Fähigkeiten zur Latenzetablierung und Immunevasion umgehen Herpesviren jedoch einer sterilen Immunität und halten sich lebenslang in ihren Wirten (s. linker Teil der Abbildung). Wird das Immunsystem nun jedoch beeinträchtigt (z.B. im Zuge einer Organtransplantation oder HIV-Infektion), lockert sich die immunologische Kontrolle der latenten Herpesviren. Die Herpesviren beginnen zu replizieren und verursachen, je nach Dauer und Grad der Immunsuppression, schwere Krankheitssymptome (s. rechter Teil der Abbildung).
Quelle: eigene Darstellung

Da in der latenten Phase kaum virale Antigene produziert werden, fehlen dem Immunsystem Ziele, um die infizierten Zellen von gesunden Zellen zu unterscheiden. Die Wirtzelle, in der sich das Virusgenom befindet, wird deshalb nicht gefunden und folglich nicht eliminiert. Reaktiviert das Virus spontan im gesunden Wirt, werden fremde Antigene gebildet, die sehr schnell von dem Immunsystem des Wirts erkannt werden, so dass die Replikation im Keim erstickt wird. Wird das Immunsystem jedoch durch Stress, andere Infektionen oder durch pharmakologische Behandlungen (z.B. nach einer Transplantation) beeinträchtigt, schwindet die stetige Immunkontrolle. Diese Chance nutzen die Viren aus. Sie reaktivieren und vermehren sich. Da die Virusreplikation zwangsläufig zu Lasten des Wirts erfolgt, kommt es im Zuge der produktiven Replikation – im Gegensatz zur Latenz – häufig zu klinischen Symptomen (Abb. 1). Ein Beispiel für solche Verläufe ist das Herpes simplex Virus, das lebenslang zwischen wiederkehrenden symptomatischen Episoden von Lippenherpes (*Herpes labialis*) und einer unmerklichen Latenz im *Nervus trigeminus* hin und her wechselt.

Eine besonders perfide Strategie der persistierenden Viren liegt in der Reaktivierung während der Schwangerschaft und der anschließenden kongenitalen Übertragung von der Mutter auf den sich entwickelnden Embryo. Da das fötale Immunsystem sich noch in der Entwicklungsphase befindet, ist die Immunkontrolle von Viren eingeschränkt. Neben der angeborenen Immunität ist in dieser Phase nur ein passiver Immunschutz durch die Mutter möglich. Wenn die Mutter eine Immunreaktion erfolgreich durchgemacht hat, überträgt sie Antikörper über die Plazenta und später über die Muttermilch auf die Nachkommen. Dieser Zusammenhang erklärt auch, warum Erstinfektionen in der Schwangerschaft besonders gefährlich sind. Da die adaptive Immunantwort erst mit einer Verzögerung einsetzt, entsteht ein Zeitfenster, in dem der Erreger den Embryo beziehungsweise Fötus infizieren kann, bevor schützende Antikörper von der Mutter gebildet werden. Da selbst abgeschwächte Erreger für den Fötus schädlich sein können, vermeidet man Impfungen von Schwangeren mit Lebendimpfstoffen. Es ist deshalb unerlässlich, dass das Umfeld adäquat geimpft ist, so dass ein Kollektivschutz entsteht, der auch Herdenimmunität genannt wird. Die Schwangere kommt in diesem Fall nicht mit den betreffenden Viren in Kontakt, da sämtliche Kontaktpersonen immun sind und eine unüberwindliche Barriere für Viren bilden.

Herpesviren

Herpesviren und ihre Wirte haben sehr wahrscheinlich Koevolutionsphasen von mehreren Millionen Jahren hinter sich[5]. Während dieser Zeit wurden die viralen Immunantagonisten kontinuierlich perfektioniert. Heute findet sich für jede relevante Funktion des Immunsystems mindestens ein Antagonist im Arsenal der Herpesviren. Sind noch keine Antagonisten bekannt, hat man entweder nicht adäquat gesucht, oder der adressierte Aspekt des Immunsystems ist weniger relevant als vermutet. Diese Anpassung hatte für die Herpesviren jedoch auch einen hohen Preis. Sie haben sich so spezifisch an ihre Wirtsspezies angepasst, dass *in natura* selbst eng verwandte Arten nicht mehr produktiv infiziert werden können. So erkranken Gorillas, Schimpansen und Menschen jeweils an einer „eigenen" Art von Cytomegaloviren. Cytomegaloviren sind die Prototypen der Betaherpesviren. Das beeinträchtigt Experimente mit humanpathogenen Herpesviren in Kleintiermodellen wie der Maus. Es bedeutet jedoch auch, dass neben dem Menschen keine weiteren Virusreservoire mehr existieren. Mit einem effizienten Vakzin könnte man humanpathogene Herpesviren also im Prinzip vollständig ausrotten. Bei Viren mit zusätzlichen tierischen Reservoiren wäre das deutlich schwerer.

Nahezu jede*r Erwachsene ist – oft unwissend – mit einem oder mehreren Herpesviren latent infiziert. Während der Latenz sind Herpesviren selbst mit den sensitivsten Diagnostikmethoden nur selten nachweisbar. Wird das Immunsystem jedoch beeinträchtigt, kommt es häufig zu Herpesreaktivierungen. Da HIV-infizierte Patient*innen während des AIDS-Stadiums zu wenige CD4-positive T-Helferzellen besitzen, ist das Immunsystem stark beeinträchtigt, und Herpesviren wie das Kaposi-Sarkom-Virus (Humanes Herpesvirus 8), Epstein-Barr-Virus (Humanes Herpesvirus 4) oder das humane Cytomegalovirus (Humanes Herpesvirus 5) verursachen schwere Krankheiten. Auch Patient*innen, die wegen einer Transplantation auf Immunsuppressiva angewiesen sind, um eine Organabstoßung oder eine Graft-versus-Host-Erkrankung zu verhindern, zeigen gehäuft Herpesvirusreaktivierungen. Daraus kann man schlussfolgern, dass die Latenz nicht als eine „selbstverordnete" Ruhe des Herpesvirus missverstanden werden darf, sondern dass es sich um eine hart umkämpfte Pattsituation handelt, bei der das Immunsystem die Virusreplikation mit allen zur Verfügung stehenden Mitteln bekämpft, während das Virus mit seinen Immunantagonisten versucht, die Immunkontrolle zu umgehen und produktiv zu replizieren. Beide Widersacher sind mit ihren Strategien nur partiell erfolgreich. Der Wirt erreicht zwar keine sterile Immunität, verhindert aber Symptome und Krankheit. Das Virus erreicht keine produktive Replikation, verhindert jedoch seine Auslöschung. Wird das Immunsystem in seiner Funktion eingeschränkt, verschiebt sich die Balance. Die Kontrolle ist nicht mehr effizient genug, und die Herpesviren beginnen zu reaktivieren (Abb. 1). In Anlehnung an die Worte der Romanfigur der Roten Königin (s.o.) nennt man solche Verhältnisse *Red Queen Races* oder Rennen der Roten Königin. Es handelt sich um Situationen von evolutionärem Wettrüsten, in denen beide Seiten kontinuierliche Adaptation und Evolution am Rande der Machbarkeit benötigen, nur um den Status Quo aufrechtzuerhalten.

Wer aus dem Gleichgewicht gerät, fällt

Mit Hilfe der Molekularbiologie lassen sich solche Gleichgewichte gezielt manipulieren und untersuchen. Man kann die Position des Wirts beeinträchtigen, indem man genetisch veränderte Labortiere einsetzt, denen bestimmte Aspekte des Immunsystems fehlen. Alternativ kann man die Anpassung des Virus, zurücknehmen, indem man Virusmutanten erzeugt, denen bestimmte Immunantagonisten aus dem Genom entfernt wurden. Teilweise haben solche Veränderungen drastische Auswirkungen auf den Infektionsverlauf. Wir nutzen für solche Studien das Maus-Cytomegalovirus (MCMV; *Murides Herpesvirus 1*), das eng mit dem humanen Cytomegalovirus (HCMV) verwandt ist, und die Maus als natürlichen Wirt infiziert. Studien aus England zeigen, dass die Mehrheit aller freilebenden Mäuse latent mit MCMV infiziert ist[6]. Es handelt sich also um eine natürliche Infektion, in der sich Wirt und Virus im Laufe der Koevolution gegenseitig beeinflusst haben. Nach einer Erstinfektion repliziert MCMV in der Maus in verschiedenen Organen. Kurz nach der Infektion kommt es zu einer angeborenen Immunreaktion. Zeitverzögert folgt dann nach etwa einer Woche die adaptive Immunreaktion. Das Immunsystem dämmt die MCMV-Infektion anschließend sukzessive ein und verhindert die produktive Virusreplikation. Genau wie die humanen Herpesviren wendet MCMV jedoch die sterile Immunität ab und etabliert stattdessen eine latente Infektion. Dies lässt sich beweisen, indem man das Immunsystem latent infizierter Mäuse ausschaltet. In diesem Fall reaktiviert MCMV in sämtlichen Mäusen. Infiziert man nun jedoch Mäuse, deren angeborenes Immunsystem durch den Verlust von STAT2, einem wichtigen Molekül des Interferon-Jak-STAT-Signaltransduktionsweges, beeinträchtigt ist, kommt es zu lebensbedrohlichen Krankheitsverläufen der Mäuse innerhalb der ersten Woche nach der MCMV-Infektion[7]. STAT2-abhängige Prozesse sind für den Wirt also unerlässlich, um eine primäre MCMV-Infektion zu überleben. Das lässt umgekehrt darauf schließen, dass STAT2 einen wichtigen Beitrag zur Immunkontrolle von MCMV erbringt und somit einen großen Selektionsdruck auf MCMV ausübt.

Diesem Druck entzieht sich MCMV teilweise, indem es den Interferonantagonisten pM27 kodiert, der STAT2 in infizierten Zellen dem proteasomalen Abbau zuführt[8]. In MCMV-infizierten Zellen findet sich also pM27, aber sehr wenig STAT2. Deletiert man das entsprechende Gen M27 aus dem Virusgenom, wird STAT2 in MCMV-infizierten Zellen nicht mehr abgebaut. Durch den Verlust von pM27 wird die Interferonanfälligkeit von MCMV sehr stark gesteigert, da Interferone ihre Funktion STAT2-abhängig ausüben. MCMV mildert die Wirkung von Interferonen also ab, indem es einen wichtigen Mediator der Interferonsignalkaskade gezielt dem Abbau zuführt. Interessanterweise baut pM27 STAT2 nicht selbstständig ab, sondern zweckentfremdet dafür zelluläre Proteine. Das virale Protein pM27 bindet STAT2 und das zelluläre Protein DDB1[9]. DDB1 ist mit sogenannten Cullin-RING-Ubiquitinligasen (CRL) verbunden. Diese CRL hängen das kleine Protein Ubiquitin an Zielproteine an, um ein Signal für den Abbau zu setzen. In uninfizierten Zellen ubiquitinieren DDB1 und CRL solche Proteine, die eine Rolle bei der Reparatur von DNA-Schäden spielen. In Anwesenheit von pM27 wird STAT2 jedoch zu einem neuen Ziel der CRL. Ubiquitinierte Proteine werden von dem Proteasom erkannt und proteolytisch abgebaut. pM27 zwingt die infizierte Zelle also, seine antiviralen Schutzmechanismen selbst zu zerstören, in dem es die DDB1- und Ubiquitin-abhängige Degradation von STAT2 über das Proteasom erzwingt. In Übereinstimmung mit unserem molekularen Modell verhindern pharmakologische Inhibitoren des Proteasoms (z.B. MG132), der Ubiquitinierung (z.B. PYR-41) und der CRL (z.B. MLN4924) den STAT2-Abbau in MCMV-infizierten Zellen[10]. Da MCMV diese zellulären Proteine für seine Zwecke ausnutzt, haben die oben genannten Substanzen außerdem eine starke antivirale Wirkung gegen MCMV sowie gegen humanpathogene Viren wie das Herpes simplex Virus und das humane Cytomegalovirus[11].

In der natürlichen Situation hat der Wirt demzufolge ausreichend STAT2, um die Infektion zu überstehen, jedoch nicht genug um das Virus zu eliminieren. Fehlt STAT2, stirbt der Wirt an den Folgen einer MCMV-Infektion, da die Interferone nicht genug Schutz bieten. MCMV reduziert die STAT2-Menge mit seinem Antagonisten pM27, so dass eine Replikation trotz der Anwesenheit von Interferonen möglich ist. Fehlt dem Virus der STAT2-Antagonist, kann es nicht mehr replizieren. Im Laufe der Evolution hat sich also ein Gleichgewicht eingependelt. Weniger STAT2 kann der Wirt nicht überleben. Mehr STAT2 ist mit der Virusreplikation nicht vereinbar. Solche Gleichgewichte werden im Fall von Herpesviren bezüglich zahlreicher Immunparameter erzielt. Auch ohne Lymphozyten verstirbt der Wirt an einer Herpesinfektion. Gleichzeitig exprimieren Herpesviren zahlreiche Immunantagonisten, welche die Aktivierung von B- und T-Lymphozyten beeinträchtigen. Der Verlust dieser viralen Antagonisten führt zur Elimination des Virus.

Über das Verständnis viraler Immunantagonisten zu neuen experimentellen Impfstoffen

Wie kann man das Wissen um solche Prozesse nun für die Impfstoffentwicklung nutzen? Natürlich kommen heute keine Herpesviren mehr vor, die keine Immunantagonisten exprimieren. Im Labor kann man solche Viren jedoch gentechnisch erzeugen. Da die Viren durch den Verlust der Antagonisten vom Immunsystem effizienter eliminiert werden, verursachen sie keine Krankheiten. Außerdem lösen sie oft stärkere Immunreaktionen aus. Wenn man Mäuse mit einer MCMV-Mutante infiziert, der das Gen *M27* fehlt, so dass STAT2 nicht mehr abgebaut werden kann, repliziert die Mutante nur für eine sehr kurze Zeit und führt zu sehr niedrigen Virustitern. Trotzdem wird eine adaptive Immunreaktion ausgelöst, so dass die Mäuse anschließend vor weiteren MCMV-Infektionen geschützt sind. Die Identifikation und Charakterisierung von Immunantagonisten ermöglicht es also, neue abgeschwächte Impfviren herzustellen. Wenn man weibliche Mäuse vor der Schwangerschaft mit dem Deletionsvirus impft, werden Antikörper gebildet und auf die Nachkommen übertragen. Dadurch werden die Jungtiere durch die Mutter passiv immunisiert, so dass sie anschließend gegen MCMV geschützt sind.

Unsere Daten aus der Maus weisen darauf hin, dass man durch die Untersuchung viraler Immunevasionsstrategien gezielt abgeschwächte Viren konstruieren kann, die eine Impfung von erwachsenen Tieren und eine passive Immunisierung der Nachkommen über maternale Antikörper ermöglichen. Durch die Deletion eines viralen Antagonisten der innaten Immunität werden also adaptive Immunantworten ausgelöst, die den Wirt effizient schützen können.

Das humane Cytomegalovirus kodiert ebenfalls einen Immunantagonisten, der STAT2 über CRLs dem proteasomalen Abbau zuführt[12]. Leider mussten wir feststellen, dass dieser Effekt nicht von dem pM27-homologen Protein pUL27 katalysiert wird, da HCMV STAT2 immer noch abbaut, selbst wenn das Gen *UL27* entfernt wurde. Unsere Arbeitsgruppe konnte jedoch kürzlich das analoge – aber nicht homologe – Protein von HCMV identifizieren. Wir charakterisieren derzeit den Phänotyp der Mutante – in der Hoffnung, dass solche Studien langfristig zur Entwicklung von neuen antiviralen Wirkstoffen und/oder neuen Impfstoffen führen.

Summary

Viruses and hosts exist in an infinite evolutionary competition. The selection pressure elicited by the virus leads to the development and gradual improvement of the immune system of the host. Simultaneously, the immune system selects viruses that adapt by more and more sophisticated immune evasion strategies. The resulting stalemate situation is quasi-stable and exhibits the characteristics of a so-called Red Queen Race, in which maximum adaptation and evolution are necessary to maintain the status quo. Applying recombinant DNA techniques of mouse cytomegalovirus (MCMV) and/or its natural host enables us to manipulate this delicate balance and study the resulting consequences. STAT2 is essential for the antiviral activity of interferons. In the absence of STAT2, mice become moribund during the first week of MCMV infection. This suggests that STAT2 is indispensable for mice to survive MCMV infections. As a reaction to the selection pressure elicited by STAT2-dependent processes, MCMV evolved the STAT2 antagonist pM27, which exploits DDB1 and Cullin-RING ubiquitin ligases (CRLs) to instruct the poly-ubiquitination and subsequent proteasomal degradation of STAT2. Drugs that interfere with the activity of the proteasome, ubiquitination or CRLs restore STAT2 in cells infected with MCMV or human CMV and elicit pronounced antiviral activity. An MCMV mutant lacking pM27 (ΔM27-MCMV) is strongly attenuated in vivo. The residual replication does not cause disease in mice, but is sufficient to induce pronounced humoral immune responses. Vaccination with ΔM27-MCMV raises protective immune responses in mice. We are currently in the process of translating the findings to human cytomegalovirus.

Anmerkungen

1) (siehe https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2017.pdf?__blob=-publicationFile)
2) (Parkin, 2006)
3) (Stark and Darnell, 2012)
4) (Crow, 2011)
(Davison, 2002)
6) (Becker et al., 2007)
7) (Le-Trilling et al., 2018)
8) (Trilling et al., 2011)
9) (Landsberg et al., 2018; Trilling et al., 2011)
10) (Le-Trilling et al., 2016; Trilling et al., 2011)
11) (Le-Trilling et al., 2016)
12) (Le-Trilling et al., 2016; Le et al., 2008)

Literatur

– Becker, S.D., M. Bennett, J.P. Stewart, and J.L. Hurst. 2007. Serological survey of virus infection among wild house mice (Mus domesticus) in the UK. Lab Anim 41:229-238.
– Crow, Y.J. 2011. Type I interferonopathies: a novel set of inborn errors of immunity. Ann N Y Acad Sci 1238:91-98.
– Davison, A.J. 2002. Evolution of the herpesviruses. Vet Microbiol 86:69-88.
– Landsberg, C.D., D.A. Megger, D. Hotter, M.U. Ruckborn, M. Eilbrecht, J. Rashidi-Alavijeh, S. Howe, S. Heinrichs, D. Sauter, B. Sitek, V.T.K. Le-Trilling, and M. Trilling. 2018. A Mass Spectrometry-Based Profiling of Interactomes of Viral DDB1- and Cullin Ubiquitin Ligase-Binding Proteins Reveals NF-kappaB Inhibitory Activity of the HIV-2-Encoded Vpx. Front Immunol 9:2978.
– Le-Trilling, V.T., D.A. Megger, B. Katschinski, C.D. Landsberg, M.U. Ruckborn, S. Tao, A. Krawczyk, W. Bayer, I. Drexler, M. Tenbusch, B. Sitek, and M. Trilling. 2016. Broad and potent antiviral activity of the NAE inhibitor MLN4924. Sci Rep 6:19977.
– Le-Trilling, V.T.K., K. Wohlgemuth, M.U. Ruckborn, A. Jagnjic, F. Maassen, L. Timmer, B. Katschinski, and M. Trilling. 2018. STAT2-Dependent Immune Responses Ensure Host Survival despite the Presence of a Potent Viral Antagonist. J Virol 92:
– Le, V.T., M. Trilling, M. Wilborn, H. Hengel, and A. Zimmermann. 2008. Human cytomegalovirus interferes with signal transducer and activator of transcription (STAT) 2 protein stability and tyrosine phosphorylation. J Gen Virol 89:2416-2426.
– Parkin, D.M. 2006. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030-3044.
Stark, G.R., and J.E. Darnell, Jr. 2012. The JAK-STAT pathway at twenty. Immunity 36:503-514.
– Trilling, M., V.T. Le, M. Fiedler, A. Zimmermann, E. Bleifuss, and H. Hengel. 2011. Identification of DNA-damage DNA-binding protein 1 as a conditional essential factor for cytomegalovirus replication in interferon-gamma-stimulated cells. PLoS Pathog 7:e1002069.

Der Autor

Mirko Trilling studierte von 1998 bis 2004 Biologie an der Freien Universität (FU) Berlin. Er fertigte seine Diplomarbeit am Robert-Koch-Institut in Berlin an. Für seine Doktorarbeit folgte er seinem Doktorvater Prof. Hartmut Hengel an das Institut für Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Er war Stipendiat des DFG-geförderten Graduiertenkollegs 1045 mit dem Titel „Modulation von Wirtszellfunktionen zur Behandlung viraler und bakterieller Infektionen“ (Sprecher: Prof. Ulf Dittmer). Von 2009 bis 2012 war er weiter als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Gruppe von Prof. Hengel in Düsseldorf tätig. 2012 wechselte er dann auf eine Juniorprofessur nach Essen an das Institut für Virologie der Universität Duisburg-Essen. Im Jahr 2018 wurde er auf eine Professur für Virologie berufen. Er ist als Ko-Sprecher des Graduiertenkollegs 1949 mit dem Titel „Immune Response in Infectious Diseases – Regulation between Innate and Adaptive Immunity“ und als einer der Sprecher des Cores „Infectious Diseases“ der Graduiertenschule BIOME tätig.

Benjamin Wilde. Foto: Vladimir Unkovic

*Der Schwerpunkt der Klinik für Infektiologie liegt auf dem interdisziplinären Management von Infektionskrankheiten im Rahmen der Immunsuppression. Die Spezialist*innen für Infektionskrankheiten arbeiten eng mit Mikrobiolog*innen, Virolog*innen, Nephrolog*innen, Hepatolog*innen und Immunolog*innen zusammen, um die optimale Prävention, Diagnose und Behandlung zum Wohle der Patient*innen zu gewährleisten. Diese Bündelung von Kompetenzen ist ein echter Vorteil, da die an der Diagnose und Behandlung von Infektionskrankheiten beteiligten Ärzt*innen und Wissenschaftler*innen interdisziplinär zusammenarbeiten.*

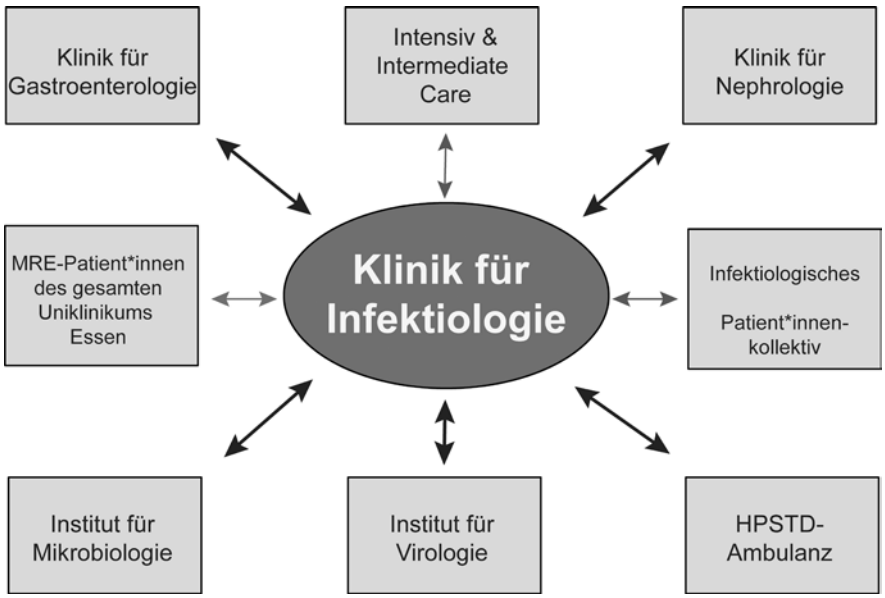
Moderne Infektiologie: Eindringlinge unschädlich machen

Universitäre Infektiologie als fächerübergreifendes Konzept der stationären Patient*innenversorgung

Von Oliver Witzke, Benjamin Wilde & Adalbert Krawczyk

Was versteht man unter einer Infektion?

Unter einer Infektion (lat. inficere „anstecken", „vergiften"; wörtlich „hineintun"), versteht man das Eindringen und die anschließende Vermehrung von Krankheitserregern wie zum Beispiel Bakterien oder Viren in einem Organismus. Bestimmte Infektionen können bereits für ansonsten gesunde Menschen eine ernstzunehmende und zum Teil lebensbedrohliche Gefahr darstellen. Nach Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) stellen Infektionen weltweit eine der häufigsten Todesursachen dar. In den Entwicklungsländern können aufgrund unzureichender medizinischer Versorgung auch vergleichsweise leicht zu behandelnde Infektionskrankheiten zum Tode führen. In den Industrieländern stellen insbesondere Infektionen bei Patient*innen mit einem geschwächten Immunsystem eine therapeutische Herausforderung dar. Die körpereigene Abwehr ist bei diesen Patient*innen nicht mehr in der Lage, die Eindringlinge zu bekämpfen und der Organismus wird von den Erregern regelrecht



(1) Schematische Darstellung des deutschlandweit einmaligen, fächerübergreifenden Konzepts der Klinik für Infektiologie, die unter eigenständiger Führung in enger Kooperation mit dem Zentrum für Innere Medizin die infektiologische Patient*innenversorgung übernommen hat.
Quelle: Adalbert Krawczyk

überschwemmt und löst dadurch eine Erkrankung aus. Diese kann für die Betroffenen zu einer akuten Bedrohung werden. Dies ist zum Beispiel nach schweren Tumor- oder Organerkrankungen an Nieren, Leber, Herz oder Lunge sowie nach Transplantationen oft der Fall, da das Immunsystem nicht zuletzt durch die notwendige Gabe von starken Medikamenten beeinträchtigt wird oder bewusst unterdrückt werden muss, um Abstoßungsreaktionen wie im Fall einer erfolgten Transplantation zu vermeiden. Bis heute sehen Ärzt*innen und Wissenschaftler*innen die Infektiologie als Teilgebiet der Inneren Medizin, da hier viele Patient*innen mit geschwächtem Immunsystem als Folge von Krankheiten oder nach Organtransplantation behandelt werden. Zunehmende Antibiotikaresistenzen erfordern neue Wege im Umgang mit Infektionen – sowohl in der Behandlung, die fachdisziplin- und behandlungsübergreifend erfolgen muss, als auch in der Nachsorge, die gerade bei älteren Menschen immer wichtiger wird. Um diesen Herausforderungen gerecht zu werden, wurde am Universitätsklinikum Essen die Klinik für Infektiologie gegründet.

Die Klinik für Infektiologie

Die Gründung der Klinik für Infektiologie unter der Leitung von Prof. Oliver Witzke erfolgte im Jahr 2015 als Teil des Westdeutschen Zentrums für Infektiologie (WZI) am Universitätsklinikum Essen. Der Grundstein dazu wurde bereits im Jahr 2011 mit der Gründung der Sektion Klinische Infektiologie mit dem Schwerpunkt „Infektiologie & Immunologie“ gelegt. Im Juni 2013 folgte die Gründung des Westdeutschen Zentrums für Infektiologie am Universitätsklinikum Essen, das ein zentrales Organ für alle klinischen und wissenschaftlichen Bereiche der Infektionsmedizin darstellt. Im Juli 2013 wurde eine Interdisziplinäre Infektions- und Isolationsstation mit Schleusensystem und Drucklufttrennung sowie zentraler Monitorüberwachung als Kernstück der Infektionsmedizin eröffnet. Im Herbst 2015 wurde schließlich die Klinik für Infektiologie etabliert, die unter eigenständiger Führung in enger Kooperation mit den anderen Abteilungen im Zentrum für Innere Medizin und darüber hinaus die infektiologische Patient*innenversorgung übernommen hat. Im Jahr 2016 wurde eine zweite interdisziplinäre Infektionsstation eröffnet, so dass aktuell insgesamt 35 infektiologische Krankenhausbetten zur Verfügung stehen, die eine über 90-prozentige Bettenauslastung aufweisen. Das deutschlandweit einzigartige Konzept der Klinik für Infektiologie besteht darin, fächerübergreifend sämtliche klinischen und wissenschaftlichen Bereiche der Infektionsmedizin am Universitätsklinikum Essen zu bündeln und damit nicht nur die klinische Versorgung von Patient*innen, sondern auch Forschung und Lehre nachhaltig zu stärken (Abb. 1).

Gemeinsam mit einem Team aus 15 Ärzt*innen sowie 32 Pflegenden behandelt Prof. Oliver Witzke,

Direktor der Klinik für Infektiologie, in insgesamt 35 Stationsbetten und 12 Intensivstationsbetten Patient*innen mit den verschiedensten Infektionskrankheiten. Zu diesen gehören unter anderem HIV, Infektionen bei transplantierten Patient*innen sowie bei schweren internistischen Begleiterkrankungen. Des Weiteren werden im Isolationsbereich der Stationen M-INF 1 und 2 auch Infektionen mit Tuberkulose (TBC), anderen schwer zu therapierenden Erregern wie beispielsweise Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus (MRSA), Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) und Tropenerkrankungen behandelt. Für sehr schwer verlaufende Infektionserkrankungen verfügt die Klinik für Infektiologie über Intensivbetten auf der konservativen Intensivstation INTK.

Als Teil des Westdeutschen Zentrums für Infektiologie arbeitet die Klinik für Infektiologie bei der Patient*innenversorgung eng mit Mikrobiolog*innen, Virolog*innen und Immunolog*innen, den organspezifischen Internist*innen, Pädiater*innen, Dermatolog*innen und Intensivmediziner*innen zusammen. Diese gebündelten Kapazitäten und das damit verbundene Fachwissen wird von der Infektiologie allen Kliniken des Universitätsklinikums Essen zur Verfügung gestellt, um die optimale Versorgung von Patient*innen mit Infektionen sicherstellen zu können. Damit übernimmt die Klinik für Infektiologie eine eigenständige, übergreifende Rolle und ist damit Vorreiter in Deutschland: An keiner anderen deutschen Universitätsklinik wurde bisher eine vergleichbare Klinik eingerichtet.

Smart Hospital: Klinik für Infektiologie

Das Universitätsklinikum Essen ist bundesweit Vorreiter in Sachen „intelligentes Krankenhaus“. Ebenso gehört die Klinik für Infektiologie zu den modernsten Kliniken ihrer Art. Die digitale Patient*innenakte (EPA) ermöglicht zusammen mit modernster Infrastruktur eine optimale Versorgung der Patient*innen. In der EPA sind beispielsweise Allergien, Unverträglichkeiten, Blutwerte, Röntgenbilder und vorausgegangene Diagnosen und Behandlungen mit deren Vorgeschichte gespeichert.

Auf diese Weise werden Patient*innendaten und Befunde aus den unterschiedlichen Fachrichtungen gebündelt und erleichtern dem behandelnden Ärzt*innenteam die Behandlung der*s Patient*in. Zu der Ausstattung der infektiologischen Station gehören ebenfalls mobile Visitenwagen mit WLAN. Die Vitalparameter der Patient*innen werden an jedem der 32 Betten digital erfasst und können am Monitor in Echtzeit eingesehen werden. Durch flächendeckende Vernetzung werden die Vitalparameter automatisch in die elektronische Patient*innenakte übermittelt und können zentral durch die behandelnden Ärzt*innen eingesehen werden. Die Anordnung der erforderlichen Untersuchungen und Medikamente erfolgt ebenfalls digital über das Programm ID Pharma. Die elektronische Patient*innenakte stellt ein unverzichtbares Medium dar, um gezielt und effizient die bestmögliche Patient*innenversorgung zu gewährleisten.

(2) Ein moderner Arbeitsplatz in der Klinik für Infektiologie. Durch die digitale Patient*innenakte hat das behandelnde Ärzt*innenteam den besten Überblick über den Gesundheitsstatus der*s Patient*in.
Quelle: UK Essen

Schwerpunkt

Ein Schwerpunkt der Klinik für Infektiologie liegt in der Erforschung, Prävention, Diagnostik und Therapie von Infektionskrankheiten bei Patient*innen mit Immunschwäche. Aufgrund stetig verbesserter Behandlungsmethoden und steigender Lebenserwartung nimmt die Anzahl dieser Patient*innen, die aufgrund eines geschwächten Immunsystems durch Infektionskrankheiten besonders gefährdet sind, kontinuierlich zu. Einen weiteren Schwerpunkt stellt die Behandlung von komplexen und schwer zu therapierenden infektiologischen Erkrankungen dar. Ein besonderer Fokus liegt zudem in der Behandlung von Patient*innen mit Infektionen vor und nach Organtransplantation sowie von HIV- und AIDS-Patient*innen. Dadurch übernimmt die Klinik für

Infektionen bei immunsupprimierten Patient*innen	Allgemeine infektiologische Erkrankungen	Isolations-bereich
• AIDS-Patient*innen • Patient*innen nach Transplantation *(v.A. Leber, Niere)* • Patient*innen mit Organversagen *(Leber, Niere, Lunge)*	• Sepsis • Pneumonie • Pyelonephritis • Komplexe Infektionen	• Tuberkulose • Krankenhauskeime *(MRSA, VRE, MRGN etc.)* • Epidemische Erkrankungen *(EHEC, Influenza etc.)* • Tropenerkrankungen *(EBOLA, MERS)* • Infektiöse Darmerkrankungen

(3) Klinische Schwerpunkte der Klinik für Infektiologie.
Quelle: Adalbert Krawczyk

Infektiologie eine zentrale Rolle bei der fächerübergreifenden, medizinischen Versorgung von Patient*innen mit Infektionskrankheiten und stärkt das Universitätsklinikum Essen, das eines der größten Transplantationsprogramme in Europa sowie eine große überregionale HIV-Ambulanz betreibt.

Lehre

Die Klinik für Infektiologie am UK Essen ist die einzige universitäre Klinik mit ausschließlichem Fokus auf das Fach Infektiologie, das die Klammer um sämtliche klinischen und wissenschaftlichen Bereiche der Infektionsmedizin am Universitätsklinikum Essen bildet und damit sowohl die klinische Versorgung von Patient*innen als auch die Forschung und die Lehre umfasst. Dozent*innen der Klinik für Infektiologie bringen Medizinstudierenden die komplexen Themenbereiche der Infektiologie im Rahmen von Vorlesungen und Seminaren nahe. Durch „Bedside Teaching“ im Rahmen von Blockpraktika wird den Studierenden das Fach „Infektiologie“ zudem patient*innennah vermittelt. Im weiteren Verlauf des Studiums können angehende Mediziner*innen im Rahmen des neu eingerichteten PJ-Fachs Infektionsmedizin praxisrelevante Sachverhalte aus den Bereichen Infektiologie, Virologie, Mikrobiologie sowie Hygiene kennenlernen. Niedergelassene Ärzt*innen und Klinikmitarbeiter*innen können ihr Fachwissen im Rahmen von Fortbildungsveranstaltungen intensivieren. Perspektivisch ist es das Ziel der Klinik für Infektiologie, die Bevölkerung für den Bereich Infektiologie zu sensibilisieren, über Themen wie beispielsweise Infektionen mit multiresistenten Erregern zu informieren und bei Patient*innen mit Immunschwäche eine kompetente Impfberatung anzubieten.

Schnittstelle Infektiologie und Transplantation

Patient*innen nach solider Organtransplantation weisen – bedingt durch die nach Transplantation notwendige immunsuppressive Therapie – ein besonderes Risiko für opportunistische Infektionen auf. Erreger und Infektionen, die bei Patient*innen mit intaktem Immunsystem keine Konsequenzen haben, können nach Organtransplantation von hoher Bedeutung sein und unter Umständen den*die Patient*in vital bedrohen. Ein Beispiel hierfür ist die Infektion mit Zytomegalovirus (CMV). Die Durchseuchung mit CMV liegt für Schwangere und Blutspender*innen in Deutschland bei 47 Prozent[1]. Die Erstinfektion bei Gesunden ist in der Regel asymptomatisch. Bei Patient*innen nach Organtransplantation kann die Erstinfektion mit schweren Verläufen einhergehen[1]. Insbesondere können ernste Darm-, Augen- und Lungenentzündungen durch das Virus ausgelöst werden, die sogar tödlich sein können. CMV persistiert lebenslang in hämatopoetischen Stammzellen, Monozyten und Epithelzellen. Die latente Infektion kann unter bestimmten Umständen reaktivieren. Auch die Reaktivierung ist bei Gesunden in der Regel asymptomatisch[1]. Patient*innen nach Organtransplantation können, ähnlich wie bei Erstinfektion, schwere Darm-, Lungen- und Augenbeteiligungen entwickeln. Daher besteht beispielsweise für Patient*innen nach Nierentransplantation ein Risiko für Erstinfektionen oder Reaktivierung einer CMV-Infektion[2]. Patient*innen können in Risikogruppen eingeteilt werden, die sich nach Infektionsstatus des*r Transplantatempfängers*in und des*r Transplantatspenders*in richten.[2] Besteht weder auf Transplantatempfänger*innen- noch auf Spender*innenseite eine Infektion mit CMV, so ist das Risiko einer klinisch bedeutsamen Primärinfektion gering. Sind sowohl Empfänger*in als auch Spender*in zum Zeitpunkt der Transplantation bereits mit CMV infiziert, so besteht ein mittleres Risiko für klinisch bedeutsame Reaktivierungen. Ist der*die Spender*in CMV-positiv und besteht auf Empfänger*innenseite keine Infektion zum Zeitpunkt der Transplantation, so besteht ein hohes Risiko für eine klinisch bedeutsame Primärinfektion beim*bei der Empfänger*in. In den ersten 100 Tagen nach Transplantation liegt die Inzidenz einer klinisch bedeutsamen CMV-Infektion im Falle der mittleren Risiko-Konstellation bei 20 Prozent der Empfänger*innen und im Falle der Hoch-Risiko-Konstellation bei 56 Prozent[2]. Die Primärinfektion oder Reaktivierung nach Transplantation ist ein wichtiger Risikofaktor für Nierentransplantatabstoßung, Transplantatfunktionsverlust und vermindertes Patient*innenüberle-

ben. Die Ursachen hierfür und die Bedingungen, die die Reaktivierung einer latenten Infektion begünstigen, sind nicht ausreichend untersucht. In Zusammenarbeit mit Professor Benjamin Wilde, Experimentelle Nephrologie (Klinik für Nephrologie) untersucht Professor Oliver Witzke die zelluläre CMV-spezifische Immunität bei Patient*innen nach Nierentransplantation unter der Hypothese, dass eine veränderte, ineffektive zelluläre, anti-virale Immunität eine klinisch manifeste CMV-Reaktivierung begünstigt. Witzke und Wilde wiesen nach, dass die Polarisation von CMV-spezifischen T-Zellen als Th21-Zellen mit einem höheren Risiko für einen Funktionsverlust des Nierentransplantats einhergeht[3]. Zudem scheinen CMV-spezifische T-Zellen unter der Kontrolle von Ko-Inhibitoren zu stehen; die gezielte Modulation der Ko-Inhibition verbesserte die CMV-spezifische T-Zell-Reaktivität bei Patient*innen[4]. Ein veränderter T-Zell-Metabolismus kann ebenfalls ähnliche Auswirkungen haben.

Eine weitere relevante Infektion bei Patient*innen nach solider Organtransplantation ist die Polyomavirus-Infektion[5–7]. Die gefährlichste Komplikation ist dabei die Progression in eine BK-Virus-assoziierte Nephropathie (BKVAN), die eine direkte Folge einer BK-Virus-Reaktivierung unter Immunsuppression ist und durch eine progressive Entzündung zu Nieren-Parenchymschäden bis hin zum Organverlust führt[6]. Bei persistierender BKVAN werden bis zu 75 Prozent der betroffenen Transplantate irreversibel geschädigt. Dabei ist die Höhe der BK-Viruslast ein unabhängiger Risikofaktor für die Progression zur BKVAN, aber auch für den Verlust der Transplantatfunktion[6]. Eine spezifische antivirale Therapie der BK-Infektion gibt es bisher nicht. Die einzige wirkungsvolle Therapiestrategie ist eine konsequente Reduktion der Immunsuppression. Ebenso wie bei der CMV-Infektion ist möglicherweise eine unzureichende zelluläre, spezifische antivirale Immunität ein ausschlaggebender Faktor, der eine dauerhafte Kontrolle der Infektion negativ beeinflusst. Daher ist auch die zelluläre BKV-spezifische Immunität ein Forschungsschwerpunkt, der gemeinsam mit Professor Benjamin Wilde bearbeitet wird. Es werden Mechanismen untersucht, die eine eingeschränkte BKV-spezifische zelluläre Immunantwort bedingen können. Hierzu zählen neben der Ko-Inhibition auch virus-spezifische regulatorische B- und T-Zellen.

Patient*innen nach solider Organtransplantation sind anfälliger für komplexe bakterielle Infektionen und Septitiden[8]. Die bakterielle Sepsis zeichnet sich neben dem infektiösen Geschehen auch durch einen zusätzlichen, immunologischen Pathomechanismus aus[9]. Es tritt eine Immundefizienz variabler Dauer auf, die das Risiko des*r Patient*in für Zweitinfektionen erhöht. Die immunologischen Pathomechanismen, die eine Immundefizienz im Rahmen einer Sepsis bedingen, sind Gegenstand intensiver Forschungsarbeiten der Gruppe um Oliver Witzke. In Zusammenarbeit mit den Professoren Benjamin Wilde und Manfred Schedlowski (Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensimmunbiologie) wies er nach, dass die für Pilz-Infektionen essentiellen Immunzellen vom Th17-Typ während und nach einer Endotoxämie anerg sind[10]. In weiteren Untersuchungen stellte sich heraus, dass diese Anergie nicht durch regulatorische B-Zellen bedingt ist[11].

Forschung an der Klinik für Infektiologie

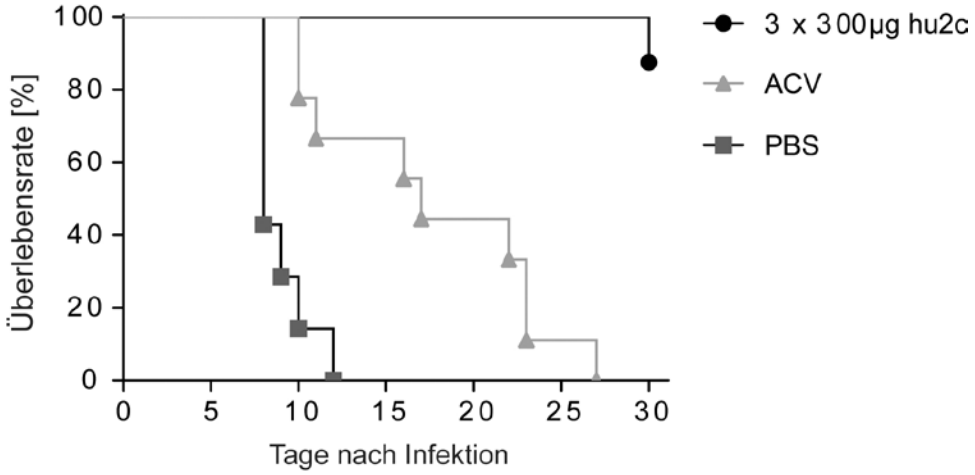
Klinische Forschung

Durch die Berufung von Oliver Witzke auf eine Professur für Infektiologie der Rudolf Ackermann Stiftung im Jahr 2018 wurde der Forschungsbereich der Infektiologie gestärkt. Zur Ausstattung der Professur gehören neben einem Laborleiter auch ein naturwissenschaftlicher Doktorand und eine technische Assistenz. Durch die Integration eines neugegründeten Forschungslabors für Infektiologie unter der Leitung des Fachvirologen PD Dr. Adalbert Krawczyk können klinische Fragestellungen im Labor untersucht werden. Im Mittelpunkt der Forschung steht das Verständnis von klinisch relevanten Aspekten der Infektiologie sowie die Entwicklung und Erprobung neuartiger Konzepte zur Prävention und Behandlung von Infektionskrankheiten.

Beispielsweise werden an der Klinik für Infektiologie zahlreiche klinische Studien durchgeführt, bei denen die Wirksamkeit von Impfstoffen zur Vorbeugung von Infektionen mit viralen Pathogenen wie zum Beispiel dem Humanen Zytomegalovirus (CMV), dem Varizella-Zoster-Virus (Gürtelrose) und dem Hepatitis-B-Virus untersucht wird[12,13]. Im Vordergrund stehen hierbei insbesondere ältere Patient*innen und Patient*innen mit einem geschwächten Immunsystem infolge einer Transplantation. Insgesamt werden derzeit 15 klinische Studien an der Klinik für Infektiologie durchgeführt. Die wissenschaftliche Aufarbeitung dieser Studien erfolgt fächerübergreifend in enger Kooperation unter anderem mit den Instituten für Virologie, Mikrobiologie, Gastroenterologie und Transfusionsmedizin.

Translationale Grundlagenforschung

Ein wesentlicher Aspekt der translationalen Grundlagenforschung an der Klinik für Infektiologie liegt in der Entwicklung und Erprobung von neuartigen Medikamenten und Impfstoffen gegen Infektionen mit Viren, die im Rahmen einer Transplantation eine ernstzunehmende Bedrohung für den*die Patient*in darstellen können. Zu diesen gehören beispielsweise Herpes-simplex-Viren, das Humane Zytome-



(4) Antiviraler Antikörper mAk hu2c vermittelt Schutz vor einer Medikamenten-resistenten HSV-Infektion. Hochgradig immundefiziente NOD/SCID-Mäuse wurden mit einer letalen Viruslast eines Aciclovir (ACV)-, Foscarnet (PFA)- und Cidofovir (CDV)-multiresistenten klinischen Isolates infiziert und mit dem antiviralen Antikörper mAk hu2c behandelt. Kontrolltiere erhielten eine hochdosierte ACV-Therapie oder eine PBS-Pufferlösung verabreicht. Die Versuchstiere wurden über einen Zeitraum von 30 Tagen beobachtet.
Quelle: Abbildung verändert aus Krawczyk A, Arndt MA, Grosse-Hovest L, Weichert W, Giebel B, Dittmer U, Hengel H, Jager D, Schneweis KE, Eis-Hubinger AM, Roggendorf M, Krauss J. Overcoming drug-resistant herpes simplex virus (HSV) infection by a humanized antibody. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013; 110:6760–5

galovirus oder das Polyomavirus BKV. Gemeinsam mit Kolleg*innen aus dem In- und Ausland verfolgen wir das Ziel, die Infektionen besser zu verstehen, um auf Grundlage der Ergebnisse neue Wirkstoffe zu entwickeln. Auf diese Weise ist es uns beispielsweise gelungen, einen neuartigen antiviralen Antikörper zur Prophylaxe und Behandlung von Infektionen mit Herpes-simplex-Viren zu entwickeln.

Herpes-simplex-Viren vom Typ 1 (HSV-1) und Typ 2 (HSV-2) gehören mit einer Durchseuchungsrate von bis zu 90 Prozent bei Erwachsenen zu den häufigsten Krankheitserregern beim Menschen. Die Primärinfektion erfolgt zumeist schon im Kindesalter und verläuft in der Regel (in 99 % der Fälle) asymptomatisch. Das Virus verbleibt anschließend lebenslang im Organismus des Wirts und kann in Abhängigkeit von äußeren Umweltfaktoren und dem Immunstatus des* der Patient*in reaktivieren. Rezidive führen häufig zu einer akuten, symptomatischen Infektion. Bei Menschen mit intaktem Immunsystem können wiederkehrende HSV-Infektionen schmerzhafte Läsionen im Oral- beziehungsweise Genitalbereich verursachen. Diese sind jedoch lokal begrenzt und lassen sich in der Regel gut mit den verfügbaren Medikamenten wie beispielsweise Aciclovir behandeln.

Schwerwiegende Komplikationen können bei ansonsten gesunden Menschen auftreten, wenn das Virus das Auge infiziert. Augeninfektionen mit Herpes-simplex-Viren Typ 1 (HSV-1) führen je nach Infektionsweg zu einer Manifestation im Bereich der Netzhaut (Herpes-simplex-Retinitis) oder der Hornhaut (Herpes-simplex-Keratitis). Die damit verbundenen Krankheitsbilder „Akute Retinale Nekrose“ (ARN) beziehungsweise „Herpetische Stromale Keratitis“ (HSK) zählen zu den häufigsten infektionsbedingten Erblindungsursachen in den Industrie-Nationen. Bei Patient*innen mit Immunsuppression können HSV-Reaktivierungen zu generalisierten Infektionen führen, die ohne wirksame Behandlung tödlich sind. Des Weiteren führt die Übertragung des Virus auf Neugeborene zu lebensbedrohlichen Infektionen. Die Ausbildung von resistenten Virusstämmen erschwert die Behandlung zunehmend.

Im Rahmen unserer Forschung beschäftigen wir uns daher mit der Entwicklung neuartiger Strategien zur Vorbeugung und Behandlung von HSV-Infektionen. Unter anderem konnten wir einen antiviralen Antikörper entwickeln, der wirksam vor gefährlichen HSV-Infektionen schützt. Die besondere Eigenschaft von Herpes-simplex-Viren ist deren Fähigkeit, sich im Zuge einer Reaktivierung im menschlichen Organismus von Zelle zu Zelle (cell-to-cell spread) auszubreiten. Dieser Mechanismus wird von Herpesviren benutzt, um sich ungehindert im Organismus auszubreiten, ohne vom Immunsystem entdeckt zu werden. Die Überwindung dieses viralen Schutzmechanismus scheint also von essenzieller Bedeutung zu sein, um wirksam schwerwiegende HSV-Infektionen behandeln zu können. Nach dem

heutigen Wissensstand können menschliche Antikörper diesen Weg der Virusausbreitung nicht hemmen.

From bed to bedside

Im Verlauf der letzten Jahre konnten wir einen humanisierten monoklonalen Antikörper entwickeln, der die zellassoziierte Ausbreitung der Herpes-simplex-Viren wirksam hemmt. In zahlreichen Zellkultursystemen konnten wir zeigen, dass dieser Antikörper (mAk hu2c) humanen Antikörperpräparaten in der antiviralen Wirksamkeit deutlich überlegen ist[14–16]. Zur klinischen Nutzbarmachung wurde der Antikörper im Tiermodell präklinisch evaluiert. Um möglichst praxisnahe und klinisch relevante Bedingungen zu schaffen, wurde die Wirksamkeit des Antikörpers im Mausmodell für Immunsuppression (NOD/SCID) untersucht. Zur Infektion der Versuchstiere verwendeten wir ein klinisches Isolat, welches von einem Knochenmark-transplantierten Patienten stammte. Das Virus weist Multiresistenzen gegenüber den gängigsten derzeit klinisch eingesetzten Medikamenten wie Aciclovir, Foscarnet und Cidofovir auf. Die Versuchstiere wurden anschließend zum Zeitpunkt von 24 Stunden nach Infektion mit dem humanisierten Antikörper mAk hu2c behandelt (24h, 40h und 56h nach Infektion). Kontrolltiere wurden mit einer hochdosierten Aciclovir-Therapie zweimal täglich über den gesamten Beobachtungszeitraum von 30 Tagen behandelt.

Durch die Therapie mit dem antiviralen Antikörper mAk hu2c konnten 90 Prozent der behandelten Versuchstiere vor einer tödlichen HSV-Infektion gerettet werden. Die Gabe von Aciclovir führte lediglich zu einer Verlangsamung des Fortschreitens der Infektion und hatte ansonsten keinen Einfluss auf deren tödlichen Ausgang. Die Ergebnisse der Arbeit wurden in der renommierten Fachzeitschrift *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS) veröffentlicht[14].

In weiteren Studien wurde die Wirksamkeit dieses Antikörpers gegenüber HSV-Infektionen des Auges getestet. Auch hier zeigte der Antikörper eine bemerkenswerte Wirksamkeit und konnte einen vollständigen Schutz vor schweren Infektionen der Hornhaut und der Netzhaut vermitteln[16–18]. Aufgrund seiner einzigartigen Eigenschaften wurde der Antikörper durch die Universität Duisburg-Essen patentiert. Im Jahr 2015 konnte zwischen der Universität Duisburg-Essen und einem Heidelberger Unternehmen ein Kaufvertrag erfolgreich abgeschlossen werden. Die Universität hält Anteile an diesem Unternehmen. Derzeit befindet sich der Antikörper in Klinischen Phase-I- und -II-Studien. Perspektivisch hoffen wir, dass der Antikörper den Weg in die Klinik schafft und zur Heilung von schweren HSV-Infektionen beiträgt.

Weitere Forschungsschwerpunkte

Im Rahmen einer durch die *Deutsche Forschungsgemeinschaft* (DFG) geförderten Machbarkeitsstudie forschen wir an der Herstellung eines potentiellen *Impfstoffes gegen Herpes-simplex-Viren*. Basierend auf den Erkenntnissen unserer Studien mit dem humanisierten Antikörper mAk hu2c suchen wir gezielt nach einem Impfstoff, der in der Lage ist, Antikörper zu induzieren, die die zellassoziierte Ausbreitung von HSV wirksam hemmen. In einer ersten Phase konnten wir in Kooperation mit Professor Matthias Epple (Zentrum für Biotechnologie, Universität Duisburg-Essen) einen Nanopartikel-basierten Impfstoff herstellen, der nach Impfung Antikörperantworten mit HSV-cell-to-cell spread inhibierenden Eigenschaften vermittelt. Die hierbei verwendeten Kalziumphosphat-Nanopartikel (CaP) tragen auf der Oberfläche ein HSV-Antigen, das durch den von uns entwickelten Antikörper mAk hu2c erkannt wird. Durch Immunisierung mit solchen Partikeln lassen sich nach dem Prinzip der *reversen Vakzinierung* Immunantworten mit den Eigenschaften des Antikörpers mAk hu2c induzieren. Die aus Mausseren der mit dem Nanopartikel-Impfstoff geimpften Tiere aufgereinigten Antikörper konnten die zellassoziierte Ausbreitung von HSV in Zellkultur tatsächlich wirksam hemmen. Die geimpften Tiere waren ebenso vor einer ansonsten letalen HSV-Infektion geschützt. Die Experimente zeigten, dass der von uns generierte Impfstoff ein vielversprechendes Konzept darstellt, um langfristig einen wirksamen Impfstoff zur Prävention von Herpes-simplex-Virus-Infektionen zu etablieren. Die Ergebnisse der Studie wurden im Jahr 2019 in *Nanomedicine* veröffentlicht[19].

Neben den genannten Beispielen forschen wir an der Klinik für Infektiologie an der Isolierung von wirksamen Antikörpern gegen andere Viren, wie zum Beispiel das Humane Zytomegalovirus und das Polyomavirus BKV. Unsere Forschungsvorhaben werden unter anderem durch die Rudolf Ackermann Stiftung, die Else Kröner-Fresenius-Stiftung und die VolkswagenStiftung unterstützt. Wir freuen uns, durch unsere Arbeiten einen wichtigen Beitrag zur Entwicklung von neuen Wirkstoffen zur Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten beitragen zu können und hoffen, dass diese den Weg in die Klinik finden und langfristig unseren Patient*innen helfen können.

Summary

The Department of Infectious Diseases under the medical leadership of Professor Oliver Witzke was founded in 2015 as part of the West German Centre for Infectious Diseases (WZI). The major focus of the Department is the interdisciplinary management of infectious diseases in the context of immunosuppres-

sion. Connecting expertise from various medical fields, infectious disease specialists work closely with microbiologists, virologists, nephrologists, hepatologists and immunologists to develop optimal prevention, diagnosis and treatment for the benefit of patients. This pooling of expertise is a real advantage, with doctors and scientists involved in diagnosis and treatment of infectious diseases collaborating closely on an interdisciplinary basis. Together with Professor Benjamin Wilde, professor of experimental nephrology, we combine expertise in the fields of transplantation and infectious diseases to ensure optimal patient care and conduct research on infectious diseases after solid organ transplantation.

In addition to caring for affected patients, research and teaching in the field of infectious diseases take high priority. In 2018, Oliver Witzke was appointed professor of infectious diseases, with funding from the Rudolph Ackermann Foundation. The newly founded research laboratory led by Adalbert Krawczyk is focused on the development of novel drugs against viral infections that are a major health burden, particularly in immunosuppressed patients. These include, e.g., herpes simplex viruses (HSV), the human cytomegalovirus or BK polyomaviruses. Within the past years, the group has developed a humanized monoclonal antibody against HSV, which was patented by the University of Duisburg-Essen and ultimately sold to a pharmaceutical company in Heidelberg. Supported by the German Research Foundation (DFG), we recently developed a novel vaccine candidate against HSV, which effectively protected mice from an otherwise lethal HSV infection.

Anmerkungen/Literatur

1) Floss N, Dolff S. [Opportunistic infections by human herpes viruses]. Internist (Berl), 2019; 60:678–683.

2.) Hartmann A, Sagedal S, Hjelmesaeth J. The natural course of cytomegalovirus infection and disease in renal transplant recipients. Transplantation, 2006; 82:S15–7.

3) Lindemann M, Korth J, Sun M, Xu SL, Struve C, Werner K, Dornieden T, Horn PA, Witzke O, Wilde B. The Cytomegalovirus-Specific IL-21 ELISpot Correlates with Allograft Function of Kidney Transplant Recipients. International Journal of Molecular Sciences, 2018; 19(12). pii: E3945.

4) Dornieden T, Wilde B, Korth J, Werner K, Horn PA, Witzke O, Lindemann M. Enhancement of Cytomegalovirus-Specific Cytokine Production after Modulation of the Costimulation in Kidney Transplant Patients. Journal of Immunology Research, 2019; doi:10.1155/2019/3926175.

5) Korth J, Anastasiou OE, Brasen JH, Brinkhoff A, Lehmann U, Kribben A, Dittmer U, Verheyen J, Wilde B, Ciesek S, Witzke O, Widera M. The detection of BKPyV genotypes II and IV after renal transplantation as a simple tool for risk assessment for PyVAN and transplant outcome already at early stages of BKPyV reactivation. Journal of Clinical Virology, 2019; 113:14–19.

6) Korth J, Widera M, Dolff S, Guberina H, Bienholz A, Brinkhoff A, Anastasiou OE, Kribben A, Dittmer U, Verheyen J, Wilde B, Witzke O. Impact of low-level BK polyomavirus viremia on intermediate-term renal allograft function. Transplant Infectious Disease, 2018; 20. doi: 10.1111/tid.12817.

7) Korth J, Anastasiou OE, Verheyen J, Dickow J, Sertznig H, Frericks N, Bleekmann B, Kribben A, Brinkhoff A, Wilde B, Sutter K, Dittmer U, Ciesek S, Witzke O, Widera M. Impact of immune suppressive agents on the BK-Polyomavirus non coding control region. Antiviral Research, 2018; 159:68–76.

8) Bafi AT, Tomotani DY, de Freitas FG. Sepsis in Solid-Organ Transplant Patients. Shock, 2017; 47:12–16.

9) Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. Nat Rev Immunol, 2013; 13:862–74.

10) Brinkhoff A, Sieberichs A, Engler H, Dolff S, Benson S, Korth J, Schedlowski M, Kribben A, Witzke O, Wilde B. Pro-Inflammatory Th1 and Th17 Cells Are Suppressed During Human Experimental Endotoxemia Whereas Anti-Inflammatory IL-10 Producing T-cells Are Unaffected. Frontiers in Immunology, 2018; 9:1133. doi: 10.3389/fimmu.2018.01133.

11) Brinkhoff A, Zeng Y, Sieberichs A, Dolff S, Shilei X, Sun M, Engler H, Benson S, Korth J, Schedlowski M, Kribben A, Witzke O, Wilde B. B-cell dynamics during experimental endotoxemia in humans. Biosci Rep, 2019; 39(5). pii: BSR20182347. doi: 10.1042/BSR20182347.

12) Witzke O, Hauser IA, Bartels M, Wolf G, Wolters H, Nitschke M, Group VS. Valganciclovir prophylaxis versus preemptive therapy in cytomegalovirus-positive renal allograft recipients: 1-year results of a randomized clinical trial. Transplantation, 2012; 93:61–8.

13) Witzke O, Nitschke M, Bartels M, Wolters H, Wolf G, Reinke P, Hauser IA, Alshuth U, Kliem V. Valganciclovir Prophylaxis Versus Preemptive Therapy in Cytomegalovirus-Positive Renal Allograft Recipients: Long-term Results After 7 Years of a Randomized Clinical Trial. Transplantation, 2018; 102:876–882.

14) Krawczyk A, Arndt MA, Grosse-Hovest L, Weichert W, Giebel B, Dittmer U, Hengel H, Jager D, Schneweis KE, Eis-Hubinger AM, Roggendorf M, Krauss J. Overcoming drug-resistant herpes simplex virus (HSV) infection by a humanized antibody. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013; 110:6760-5.

15) Krawczyk A, Krauss J, Eis-Hubinger AM, Daumer MP, Schwarzenbacher R, Dittmer U, Schneweis KE, Jager D, Roggendorf M, Arndt MA. Impact of valency of a glycoprotein B-specific monoclonal antibody on neutralization of herpes simplex virus. Journal of virology, 2011; 85:1793–803.

16) Krawczyk A, Dirks M, Kasper M, Buch A, Dittmer U, Giebel B, Wildschutz L, Busch M, Goergens A, Schneweis KE, Eis-Hubinger AM, Sodeik B, Heiligenhaus A, Roggendorf M, Bauer D. Prevention of herpes simplex virus induced stromal keratitis by a glycoprotein B-specific monoclonal antibody. PLoS One, 2015; 10:e0116800.

17) Bauer D, Alt M, Dirks M, Buch A, Heilingloh CS, Dittmer U, Giebel B, Gorgens A, Palapys V, Kasper M, Eis-Hubinger AM, Sodeik B, Heiligenhaus A, Roggendorf M, Krawczyk A. A Therapeutic Antiviral Antibody Inhibits the Anterograde Directed Neuron-to-Cell Spread of Herpes Simplex Virus and Protects against Ocular Disease. Front Microbiol, 2017; 8:2115. doi: 10.3389/fmicb.2017.02115.

18) Bauer D, Keller J, Alt M, Schubert A, Aufderhorst UW, Palapys V, Kasper M, Heilingloh CS, Dittmer U, Laffer B, Eis-Hubinger AM, Verjans GM, Heiligenhaus A, Roggendorf M, Krawczyk A. Antibody-based immunotherapy of aciclovir resistant ocular herpes simplex virus infections. Virology, 2017; 512:194–200.

19) Kopp M, Aufderhorst UW, Alt M, Dittmer U, Eis-Hubinger AM, Giebel B, Roggendorf M, Epple M, Krawczyk A. Induction of herpes simplex virus type 1 cell-to-cell spread inhibiting antibodies by a calcium phosphate nanoparticle-based vaccine. Nanomedicine, 2018; 16:138–148.

Die Autoren

Oliver Witzke, 1968 in Gelsenkirchen geboren, studierte Medizin an der Universität-GHS Essen und in Pittsburgh (USA). Seit 1995 ist er in der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Essen (zunächst: Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Direktor: Prof. Dr. Dr. hc. Th. Philipp) tätig. Nach der Promotion 1996 erfolgte ein zweieinhalbjähriger, DFG-geförderter

Oliver Witzke. Foto: Vladimir Unkovic

Adalbert Krawczyk. Foto: Vladimir Unkovic

Forschungsaufenthalt zum Thema „Toleranzinduktion nach Organtransplantation“ am Nuffield Department of Surgery, Universität Oxford, bei Prof. KJ. Wood und Prof. Sir P. Morris. Nach Erwerb der Facharztbezeichnungen für Innere Medizin und Nephrologie erlangte Oliver Witzke 2005 die Habilitation für das Fach Innere Medizin („Mechanismen der T-Zellimmuntoleranz und T-Zellimmundefizienz“). 2006 folgte die Zusatzweiterbildung Infektiologie, und ab 2007 war er stellvertretender Direktor und leitender Oberarzt der Klinik für Nephrologie (Direktor: Prof. Dr. med. A. Kribben). Wissenschaftlich erfolgte eine zunehmende Fokussierung auf die Themenbereiche „Infektionen bei Immundefizienz“ mit Schwerpunkten bei der Immunreaktion und Therapie verschiedener DNA-Virus-Infektionen sowie der Immunpathogenese der Sepsis. Nachdem er auswärtige Positionen in Bochum und Köln abgelehnt hatte, wurde er 2015 Direktor der neu gegründeten Klinik für Infektiologie am Universitätsklinikum Essen sowie Direktor des Westdeutschen Zentrums für Infektiologie (WZI). Im Bereich der Lehre war er federführend an der Etablierung eines in Deutschland einzigartigen PJ-Wahlfachs im Bereich der Infektionsmedizin beteiligt. 2018 erfolgte die Berufung auf die Stiftungsprofessur für Infektiologie der Rudolf Ackermann Stiftung an der Universität Duisburg-Essen.

Benjamin Wilde, Jahrgang 1982, studierte Humanmedizin an der Ruhr-Universität Bochum, der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, der Universität Maastricht und an der Universität Duisburg-Essen. Nach dem Studium und der Promotion mit Auszeichnung war er zunächst ab 2009 als wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Experimentelle und Klinische Immunologie an der Universität Maastricht in den Niederlanden tätig. Dort untersuchte er die Pathogenese des immunologisch bedingten akuten Nierenversagens und leitete hierzu schließlich eine eigene Arbeitsgruppe. Die wissenschaftlichen Arbeiten wurden durch die DFG, die niederländische Nierenstiftung und die European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) gefördert. 2013 kehrte er nach vierjährigem Forschungsaufenthalt nach Deutschland zurück und erlangte 2014 die Habilitation. 2015 erfolgte die Berufung auf die Stiftungsprofessur für Experimentelle Nephrologie der Dr. Werner Jackstädt-Stiftung. Renale Inflammation bei Transplantation/Autoimmunität und Infektionsimmunologie bei solider Organtransplantation sind die Schwerpunkte seiner Forschungstätigkeit.

Adalbert Krawczyk, Jahrgang 1978, studierte Biochemie an der Ruhr-Universität Bochum und fertigte seine Diplomarbeit am Institut für Virologie bei Prof. Klaus Überla in Bochum 1999 an. Seine wissenschaftliche Laufbahn begann am Institut für Virologie in Essen bei Prof. Michael Roggendorf, wo er 2010 mit Auszeichnung promovierte. Zwischen den Jahren 2010 und 2018 arbeitete er am Essener Institut für Virologie als Leiter der Arbeitsgruppe „Antivirale Wirkstoffe“ und betreute als stellvertretender Laborleiter das Labor für serologische Diagnostik. Im Jahr 2018 erlangte er das Zertifikat Fachvirologe der deutschen Gesellschaft für Virologie. Für seine Forschung wurde er mit zahlreichen Preisen ausgezeichnet, unter anderem mit dem Medizinpreis der Stiftung Universitätsmedizin Essen. Im Jahr 2019 erlangte er die Habilitation im Fach Virologie. Im selben Jahr wechselte er an die Klinik für Infektiologie, wo er das Forschungslabor leitet.

Graduiertenkollegs sind ein großes Plus

Ein Gespräch mit der Sprecherin des Graduiertenkollegs „Immunantwort in Infektionskrankheiten“ (GRK 1949), Prof. Dr. Astrid Westendorf und der Koordinatorin des Kollegs, Daniela Catrini M.A.

Frau Westendorf, warum ist ein DFG-Graduiertenkolleg für die Ausbildung so förderlich und was macht diese Ausbildungsform so besonders?

Astrid Westendorf: Die Grundidee der nun seit über zwanzig Jahren existierenden Graduiertenkollegs ist, Doktorand*innen aus der klassischen Einzelpromotion herauszuholen, ihre frühe wissenschaftliche Selbstständigkeit zu stärken, sowie die Promotion zu strukturieren und zu verkürzen. Dabei integrieren die Kollegs sich idealerweise in die Forschungsarbeit der Universitäten. Sie ermöglichen den Promovierenden eine wissenschaftliche und internationale Vernetzung. Neben einer Spezialisierung auf dem Gebiet des eigenen Dissertationsprojekts erhalten die Nachwuchswissenschaftler*innen im Kontext und Diskurs des Kollegs ein vertieftes Verständnis für das eigene Fach sowie für andere Disziplinen. Diese Kompetenzen sind für ihre Zukunft – ganz gleich, ob eine spätere Tätigkeit innerhalb oder außerhalb der Wissenschaft in Frage kommt – in jedem Fall ein großes Plus.

Frau Catrini, von Hause aus sind Sie Geisteswissenschaftlerin, wie sind Sie zur Koordinatorin eines Graduiertenkollegs in der Medizin geworden?

Daniela Catrini: Ja, ich habe Anglistik und Romanistik studiert. Seit 2009 bin ich im Wissenschaftsmanagement in der Medizinischen Fakultät tätig. Damals habe ich die Koordinationsstelle im Vorgänger-GRK 1045 mit dem Titel „Modulation von Wirtszellfunktionen zur Behandlung viraler und bakterieller Infektionen“ unter der Sprecherschaft von Ulf Dittmer übernommen. Für mich war das eine tolle Chance, forschungsnah und -unterstützend im universitären Umfeld tätig zu sein. Mein Aufgabengebiet ist total spannend, weil es viele Bereiche abdeckt: Veranstaltungsmanagement, Kompetenzentwicklung der Promovierenden, Kommunikation und Öffentlichkeitsarbeit, Qualitätsmanagement etc. Da unser GRK international ausgerichtet ist, ist Englisch als Arbeitssprache unabdingbar. Die Arbeit in einem interkulturellen und interdisziplinären Umfeld erfordert viel Offenheit und Fingerspitzengefühl. Das alles hat mir auf Anhieb viel Freude bereitet.

Frau Westendorf, inwiefern knüpft das aktuelle GRK inhaltlich an das vorherige an?

Westendorf: Im GRK 1045 lag der wissenschaftliche Fokus auf der Modulation von Wirtszellfunktionen zur Behandlung viraler und bakterieller Infektionen. Das aktuelle Graduiertenkolleg konzentriert sich mehr auf die Rolle des Immunsystems zur Bekämpfung einer Infektion. Damit fügt sich das jetzige GRK 1949, das sich nach erfolgreicher Zwischenevaluation in der zweiten Förderperiode befindet, passgenau in den Schwerpunkt Immunologie/Infektiologie der Medizinischen Fakultät ein.

Wir greifen aber natürlich auch auf die positiven Erfahrungen des vorherigen GRKs zurück. Bereits im GRK 1045 wurde die infektionsimmunologische Expertise der Ruhr-Universität Bochum, der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und der Universität Duisburg-Essen zu einem erfolgreichen Verbundprojekt gebündelt. Im aktuellen GRK 1949 ist die Ruhr-Universität Bochum nicht mehr in den Verbund integriert, weil die beteiligten PIs (Principle Investigators) in der ersten Förderperiode auf Lehrstühle anderer Universitäten berufen wurden.

Daniela Catrini. Foto: Vladimir Unkovic

Catrini: Organisatorisch war zu Beginn des GRK 1949 Prof. Jörg Timm Sprecher, bis er an das Institut für Virologie in Düsseldorf berufen wurde. Frau Westendorf als damalige Co-Sprecherin übernahm dann die Sprecher*innenschaft. Sie hatte das GRK mit Herrn Timm gemeinsam beantragt, und es war klar, dass die Sprecher*innenfunktion an der UDE verbleiben würde. Da unser Graduiertenkolleg ein Kooperationsprojekt mit der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ist, blieb Herr Timm weiterhin Mitglied des GRK 1949. Mit Herrn Timm und drei weiteren Antragstellern der HHU aus dem Bereich der Virologie, Immunologie und Mikrobiologie arbeiten wir seit sechs Jahren erfolgreich zusammen und haben den Forschungsschwerpunkt Infektionsimmunologie in der Rhein-Ruhr-Region weiterentwickelt und gestärkt.

Was ist Ihnen inhaltlich besonders wichtig beziehungsweise warum ist ein Graduiertenkolleg zur Immunantwort bei Infektionskrankheiten so relevant?

Westendorf: Die Bedrohung durch Infektionskrankheiten kennt keine Grenzen. Alte und neue Erreger von lebensbedrohlichen Krankheiten stellen die Weltgemeinschaft vor die dauerhaft wichtige Aufgabe, die Ausbreitung gefährlicher Infektionskrankheiten zu verhindern beziehungsweise einzudämmen.

Auch zunehmende Antibiotikaresistenzen etc. sind Herausforderungen, denen sich die Wissenschaftler*innen stellen müssen. Aber es existiert ein Mangel an Expert*innen im Bereich der Infektionsimmunologie, dem wir mit dem Ausbildungsprogramm des Graduiertenkollegs entgegensteuern. Auch die aktuelle massive Ausbreitung des Corona-

Astrid M. Westendorf. Foto: Vladimir Unkovic

Virus zeigt, wie wichtig es ist, die immunologische Kompetenz in unserer Region zu bündeln.

Was ist inhaltlich das Besondere am Graduiertenkolleg 1949?

Westendorf: Unsere immunologisch arbeitenden Infektiolog*innen kommen aus den Bereichen Virologie, Parasitologie, Immunologie und Mikrobiologie. Wir sind inhaltlich breit aufgestellt, was den Kollegiat*innen neben ihrer Spezialisierung auch einen Einblick in viele andere Nachbardisziplinen ermöglicht. So erhalten sie im Rahmen des Curriculums eine sehr gute grundlagenwissenschaftliche Basis im Bereich der Infektiologie und Immunologie. Die allen GRK-Projekten übergeordnete Fragestellung ist: Wie kann man das Immunsystem nutzen, um Therapien zu entwickeln? Die Übertragung der klinischen Fragen auf die Grundlagenforschung ist eine wichtige „Übung“ für die Mediziner*innen und Naturwissenschaftler*innen. Daher organisieren wir regelmäßig auch klinische Seminare in Zusammenarbeit mit der Klinik für Infektiologie in Essen.

Ein Blick auf die ehemaligen und aktuellen Kollegiat*innen zeigt, dass unter ihnen viele Frauen und internationale Mitglieder sind...

Westendorf: Auf der aktuellen Karrierestufe der Promovierenden ist durchaus ein Frauenüberschuss zu verzeichnen. Das Verhältnis verschiebt sich später, auf der Ebene der Post-Doktorand*innen. Und spätestens auf der Ebene der Professor*innen kehrt sich das Geschlechterverhältnis um. Das Phänomen der leaky pipeline ist leider nach wie vor aktuell. Der Frauenanteil unter den Professor*innen in den Naturwissenschaften liegt im Bundesdurchschnitt bei nur etwa 19 Prozent. Uns stehen innerhalb des Graduiertenkollegs DFG-Mittel unter anderem für die Sensibilisierung zum Thema Gender Equality und für die Karriereentwicklung von Nachwuchswissenschaftler*innen zur Verfügung. Mit diesen Mitteln organisieren wir regelmäßig Veranstaltungen, die zum Beispiel die Netzwerkbildung fördern. Der Kamin-Abend etwa ist ein Format, das in ungezwungener Atmosphäre den Austausch zwischen erfahrenen Wissenschaftlerinnen und Doktorandinnen fördert, und bei dem die jungen Nachwuchswissenschaftlerinnen ins Gespräch mit role models kommen.

Catrini: Um auf Ihre Frage bezüglich der Internationalität zurückzukommen: Wir sind zwar kein Internationales Graduiertenkolleg, das heißt unsere Antragsteller*innen sind alle an deutschen Hochschulen tätig. Aber wir sind ein GRK mit internationalen Promovierenden und Kooperationsparter*innen. Unsere derzeitigen Kollegiat*innen stammen aus Deutschland, Italien, Mexiko, China, Gambia und Slowenien. Diese internationale Ausrichtung stärkt nicht zuletzt die interkulturelle Kompetenz aller Beteiligten. Darüber hinaus, ermöglichen wir unseren Teilnehmer*innen in Kooperation mit unseren zahlreichen internationalen Partnern auch einen Auslandsaufenthalt von bis zu

drei Monaten. Hier können sie ihre Fragestellungen in einem anderen Labor im Ausland bearbeiten und erlernen nicht nur neue Methoden, sondern gewinnen auch einen Einblick in die Forschungsstrukturen des anderen Landes. Diese Erfahrung ist für die weitere Karriereplanung sehr wertvoll.

Wie darf man sich den Alltag für die Kollegiat*innen in einem Graduiertenkolleg vorstellen?

Catrini: Neben der Arbeit am individuellen Projekt stellen die Doktorand*innen auf regelmäßigen Treffen ihre Projekte vor. Sie erhalten regelmäßiges Feedback nicht nur von den Betreuer*innen, sondern auch von nationalen und internationalen Expert*innen, die wir zu Gastvorträgen in unser GRK einladen. Das Besondere an unserem Graduiertenkolleg ist, dass die jungen Nachwuchswissenschaftler*innen von Anfang an die Chance haben, Netzwerke für die Zukunft zu bilden: Sie lernen die Labore der anderen Kollegiat*innen kennen, helfen sich gegenseitig aus, entwickeln Teamgeist und profitieren vom individuellen Wissenstransfer. Dieser Vorteil ist unbezahlbar!

Westendorf: Am Forschungstag 2019 der Medizinischen Fakultät haben vier Teilnehmende unseres GRK einen Poster-Preis von insgesamt 16 aus der gesamten Fakultät gewonnen. Das zeigt, dass unsere Ausbildung Früchte trägt; unsere Kollegiat*innen haben die Fähigkeit, ihre Ergebnisse adäquat zu formulieren und zu präsentieren. Das ist auch ein Erfolg unseres Curriculums, das neben den wissenschaftlichen Veranstaltungen auch Veranstaltungen zu Soft Skills wie Scientific Writing, Rhetorik, Präsentationen, Konflikt- und Zeitmanagement vorsieht. Hier greifen wir zum einen auf die zentralen Angebote des Graduate Center Plus zurück, bieten aber auch eigene auf die Thematik und Fachkultur abgestimmte Veranstaltungen an.

Und das wird alles von Frau Catrini koordiniert?

Westendorf: Genau, das alles wird von Frau Catrini koordiniert: die Seminarplanung, die Budgetverwaltung in Zusammenarbeit mit der Drittmittelabteilung, die Organisation eines jährlichen Retreats in einer Location in der Nähe – immer mit hochkarätigen, wissenschaftlichen Gästen – und die Gestaltung der überfachlichen Angebote. Sie ist auch für die Evaluation der angebotenen Veranstaltungen zuständig. Für die Kollegiat*innen ist sie die erste Ansprechpartnerin bei Anregungen oder Problemen, wenn es zum Beispiel um gewünschte Soft Skill-Workshops oder um administrative Herausforderungen geht.

Catrini: Darüber hinaus suchen wir kontinuierlich nach neuen Kooperationspartner*innen. Zu unseren Gastvorträgen laden wir auch Kolleg*innen aus verwandten Fachdisziplinen und Studierende außerhalb unseres GRKs ein. Öffentlichkeitsarbeit ist auch im Hinblick auf die Rekrutierung neuer Promovierender extrem wichtig. So sind wir seit kurzem zum Beispiel mit einem Instagram-Account in den Social Media vertreten (rtg1949_immuneresponse).

Wie sieht es mit anderen Karrierewegen der Kollegiat*innen außerhalb der Wissenschaft aus?

Catrini: Auch weitere Karrierewege zeigen wir innerhalb des Kollegs auf, teilweise durch eigene, sehr fachspezifische Angebote, wie etwa den Career Day, bei dem wir unter anderem Vertreter*innen aus der Industrie einladen, unseren Kollegiat*innen Einblicke in ihr Berufsfeld und wertvolle Tipps zum Berufseinstieg zu geben, oder auch durch Veranstaltungen des bereits erwähnten Graduate Center Plus. Bei unserem letzten Career Day hatten wir ehemalige Absolvent*innen des GRK 1045 als Referent*innen eingeladen. Solche Veranstaltungen werden von unseren Teilnehmer*innen sehr gut angenommen.

Gibt es unter den Ehemaligen bereits etablierte Wissenschaftler*innen?

Westendorf: Ja, davon zeugen nicht zuletzt die Autor*innen dieser UNIKATE-Ausgabe: Kathrin Sutter war im vorangegangenen GRK von Prof. Dittmer Kollegiatin und ist nun im aktuellen GRK PI, Torben Knuschke war assoziiertes Mitglied im ersten Graduiertenkolleg 1045 und ist nun ebenfalls PI. Das gleiche gilt für Mirko Trilling, der in unserem GRK PI und Co-Sprecher ist.

Selbstverständlich ist es unser Ziel, die Absolvent*innen für eine wissenschaftliche Karriere zu begeistern und zu ermutigen.

Frau Westendorf, was ist für sie persönlich an einem Graduiertenkolleg besonders spannend?

Westendorf: Für mich ist die Interaktion, die Auseinandersetzung mit den jungen Leuten spannend. Ihre wissenschaftliche Entwicklung, ihren Spaß an der Forschung zu sehen und zu fördern, sie bei ihrem Lernprozess bei wissenschaftlichen Fragestellungen zu begleiten, ist eine wertvolle Erfahrung.

Wie sieht die Zukunft des Graduiertenkollegs aus?

Westendorf: Im April 2020 beginnt die dritte und letzte Kohorte unseres Kollegs. Wir sind zuversichtlich, dass die neuen Kollegiat*innen ebenso exzellent sein werden wie diejenigen aus den beiden vergangenen Kohorten.

Wie geht es danach weiter?

Westendorf: Das ist noch offen. Aber wir sind sicher, dass es erfolgreiche Nachfolgeinitiativen geben wird und sind aktuell mit vielen Akteur*innen im Gespräch.

ERSCHIENEN

UNIKATE-Ausgaben seit 1992

1 Medizin
Krebsforschung (1992). Federführung: Manfred F. Rajewsky. ISBN 3-934359-01-9

2/3 Kommunikation
Design (1993). Federführung: Vilim Vasata. ISBN 3-934359-02-7

4/5 Naturwissenschaft
Umweltforschung: Globale Risiken (1994). Federführung: Günter Schmid. ISBN 3-934359-04-3

6/7 Geisteswissenschaft
Fremdsein: Historische Erfahrungen (1995). Federführung: Paul Münch. ISBN 3-934359-06-X

8 Geisteswissenschaft
20 Jahre „poet in residence" (1996). Federführung: Jürgen Manthey. ISBN 3-934359-08-6

9 Bildung durch Wissenschaft?
Ein Kolloquium (1997). Federführung: Justus Cobet, Klaus Klemm. ISBN 3-934359-09-4

10 Medizin
25 Jahre Transplantationsmedizin in Essen (1998). Federführung: Friedrich W. Eigler. ISBN 3-934359-10-8

11 Naturwissenschaften
Physik: Unordnung und Selbstähnlichkeit (1999). Federführung: Fritz Haake. ISBN 3-934359-11-6

12 Wirtschaft
Die Europäische Union im Zeichen des Euro (1999). Federführung: Dieter Schmitt. ISBN 3-934359-12-4

13 Materialwissenschaft
Grundlagen für die Technik der Zukunft (2000). Federführung: Günter Schmid. ISBN 3-934359-13-2

14 Europäische Gesellschaft
Annäherung an einen Begriff (2000). Federführung: Wilfried Loth. ISBN 3-934359-14-0

15 Klinische Onkologie
Fortschritte in der Tumorbekämpfung (2001). Federführung: Herbert Rübben. ISBN 3-934359-15-9

16 Erfahrung
Über den wissenschaftlichen Umgang mit einem Begriff (2001). Federführung: Paul Münch. ISBN 3-934359-16-7

17 Design & Neue Medien
Kommunikationsgestaltung für eine global vernetzte Gesellschaft (2002). Federführung: Norbert Bolz. ISBN 3-934359-17-5

18 Wirtschaftsinformatik
Wissensmanagement und E-Services (2002). Federführung: Heimo H. Adelsberger. ISBN 3-934359-18-3

19 Umwelt Ruhr
Vitalität einer Region I (2002). Federführung: Wilfried Loth. ISBN 3-934359-19-1

20 Herz-Kreislaufmedizin
Experimentelle und klinische Kardiologie (2003). Federführung: Gerd Heusch. ISBN 3-934359-20-5

21 Geisteswissenschaften
Religion und Gewalt (2003). Federführung: Hubertus Lutterbach. ISBN 3-934359-21-3

22 Medizin
Neurowissenschaften (2003). Federführung: Dietmar Stolke. ISBN 3-934359-22-1

23 Ingenieurwissenschaft
Bauwesen - Ein Leistungsspektrum (2004). Federführung: Jörg Schröder. ISBN 3-934359-23-X

24 Bildungswissenschaften
Bildungsforschung nach PISA (2004). Federführung: Klaus Klemm. ISBN 3-934359-24-8

25 Medizin
Unsere Hormone (2005). Federführung: Klaus Mann. ISBN 3-934359-25-6

26 Germanistik
Arbeit an/in der Kultur (2005). Federführung: Rüdiger Brandt. ISBN 3-934359-26-4

27 Medizin: Immunologie
Das Immunsystem – Freund oder Feind? (2006). Federführung: Cornelia Hardt, Hans Grosse-Wilde. ISBN 3-934359-27-2

28 Neue Medien
Interaktivität und Ubiquität (2006). Federführung: Edgar Heineken. ISBN 3-934359-28-0

29 Wirtschaftswissenschaften
Empirische Wirtschaftsforschung (2007). Federführung: Walter Assenmacher. ISBN 978-3-934359-29-1

30 Essen im Blick
Ein interdisziplinärer Streifzug (2007). Federführung: Heiko Schulz. ISBN 978-3-934359-30-7

31 Ingenieurwissenschaften
Computersimulationen: Von Nano bis Giga (2007). Federführung: Dieter Hänel, Andrés Kecskeméthy. ISBN 978-3-934359-31-4

32 Naturwissenschaften
Physik: Energieumwandlungen an Oberflächen. Federführung: Dietrich von der Linde. ISBN 978-3-934359-32-1

33 Mathematik
Eine lebendige Wissenschaft (2008). Federführung: Axel Klawonn. ISBN 978-3-934359-33-8

34 Geschichtswissenschaft
Europa: Geschichte und Kultur (2009). Federführung: Wilfried Loth. ISBN 978-3-934359-34-5

35 Natur-/Geisteswissenschaften
Sterben, Tod – und dann? (2009). Federführung: Dieter Bingmann, Hubertus Lutterbach. ISBN 978-3-934359-35-2

36 Naturwissenschaften/Medizin
Kernmagnetische Resonanz (2009). Federführung: Christian Mayer. ISBN 978-3-934359-36-9

37 Naturwissenschaften/Medizin
Nano meets Bio (2010). Federführung: Günter Schmid. ISBN 978-3-934359-37-6

38 Geistes-/Gesellschaftwissenschaften
Beiträge zur „Ruhr 2010" (2010). Federführung: Jörg Engelbrecht. ISBN 978-3-934359-38-3

39 Ingenieurwissenschaften
Herausforderung Elektromobilität (2011). Federführung: Ferdinand Dudenhöffer. ISBN 978-3-934359-39-0

40 Social Sciences
Comparative, International, Transnational (2011). Federführung: Karen Shire. ISBN 978-3-934359-40-6

41 Geschlechterforschung
Blick hinter die Kulissen (2012). Federführung: Maren A. Jochimsen. ISBN 978-3-934359-41-3

42 Translationale Krebsforschung
Auf dem Weg zu neuen Therapien (2012). Federführung: Angelika Eggert. ISBN 978-3-934359-42-0

43 NanoEnergie
Materialentwicklung für eine nachhhaltige Energieversorgung (2013). Federführung: Christof Schulz, Marion Franke. ISBN 978-3-934359-43-7

44 Medizin
50 Jahre Universitätsklinikum: Highlights aus der Forschung (2013). Federführung: Gerd Heusch, Raimund Erbel. ISBN 978-3-934359-44-4

45 Fusionen
Was sagen die Fakultäten? (2014). Federführung: Ursula Renner-Henke, Patrick Eiden-Offe. ISBN 978-3-934359-45-1

46 Patente
Motivation für die Wissenschaft? (2014). Federführung: Stefanie Peschel, Oliver Locker-Grütjen. ISBN 978-3-934359-46-8

47 Globale Kooperationsforschung
Transdisziplinäre und transkulturelle Perspektiven (2015). Federführung: Tobias Debiel. ISBN 978-3-934359-47-5

48 Materials Chain
Forschung aus dem UA Ruhr-Profilschwerpunkt (2016). Federführung: Jörg Schröder, Ralf Drautz, Wolfgang Tillmann. ISBN 978-3-934359-48-2

49 Mehrsprachigkeit im Ruhrgebiet
Vielfältig und doch individuell (2016). Federführung: Katja Cantone, Anastasia Moraitis. ISBN 978-3-934359-49-9

50 Natur-, Ingenieur- und Wirtschaftswissenschaften
High-Performance und Cloud Computing (2017). Federführung: Andreas M. Kempf, Ludwig Mochty. ISBN 978-3-934359-50-5

51 Herausforderung Wasserforschung
Lokal, regional, global (2018). Federführung: Michael Eisinger, Torsten C. Schmidt, Bernd Sures. ISBN: 978–3–934359–51–2

52 Risikoforschung
Interdisziplinäre Perspektiven und neue Paradigmen (2018). Federführung: Renate Martinsen, Andreas Niederberger. ISBN: 978–3–934359–52–9

53 Mathematik
Herausforderung des Nichtlinearen (2019). Federführung: Gerhard Starke. ISBN: 78–3–934359–53–6

---

in Vorbereitung: 55 Bildungswissenschaften. Federführung: Maik Walpuski, Detlev Leutner

ABONNEMENT

Die UNIKATE im Abonnement

Ob im Bereich der Kommunikation, der Wirtschaft, der Medizin, der Ökonomie oder der Ökologie – im Zeitalter globaler Vernetzung sind wissenschaftliche Erkenntnisse zur entscheidenden Zukunftsinvestition geworden. Gleichzeitig führte der weltweite Zuwachs an Wissen zu immer feiner differenzierten Fächern, Disziplinen und Fachsprachen: die Wissenschaften erscheinen zunehmend unübersichtlicher und hermetischer.
Mit den UNIKATEN hat sich die Universität Duisburg-Essen die Aufgabe gestellt, Sie in verständlicher Form regelmäßig und unmittelbar aus der Forschungspraxis heraus über die aktuellen Entwicklungen in Wissenschaft und Forschung zu informieren – mit Ergebnissen und Erklärungen aus erster Hand.

ABONNEMENT

Vorname, Name _____
Straße / Postfach _____
PLZ, Ort _____
Hiermit abonniere ich die UNIKATE für 1 Jahr (2 Ausgaben) zum Preis von 12,50 € inkl. Versandkosten.
Das Abonnement verlängert sich automatisch um 1 Jahr (2 Ausgaben), wenn es nicht im laufenden Abonnementzeitraum gekündigt wird.

Bitte senden Sie mir die bereits erschienene Ausgabe
der UNIKATE zum Einzelbezugspreis von 7,50 € einschl. Porto (für Abonnenten 5,- €).

☐ Ich bin Abonnent*in.

Datum _____ Unterschrift _____

☐ Die Bestellung kann durch Mitteilung an die Heinrich-Heine Buchhandlung, Viehofer Platz 8, 45127 Essen innerhalb von 7 Tagen widerrufen werden. Es gilt das Datum des Poststempels.

☐ Datum _____ Unterschrift _____

Ich zahle per Bankeinzug zu Lasten meines Kontos Nr.

bei _____ IBAN _____

Wenn mein Konto die erforderliche Deckung nicht aufweist, besteht seitens des kontoführenden Instituts keine Verpflichtung zur Einlösung.

☐ Datum _____ Unterschrift _____

Bitte schicken Sie mir eine Rechnung. Ich überweise den Betrag. _____

Per Post oder Fax an:

Heinrich-Heine Buchhandlung · Viehofer Platz 8 · 45127 Essen · Tel.: (0201) 820700 · Fax: (0201) 8207016

☐ _____

HINWEISE

Die UNIKATE

Schon 1992 verfolgte die Universität Essen das Konzept, die Öffentlichkeit mit der Herausgabe des damals noch ESSENER UNIKATE genannten Magazins für Wissenstransfer tiefergehend über die an der Hochschule erzielten Ergebnisse in Forschung und Lehre zu informieren. In einer Zeit, in der sich Wissenschaft wie auch akademisch interessierte Leserschaft in hohem Maße ausdifferenziert haben, soll dieses Magazin für Wissenstransfer die an der Universität erarbeiteten Informationen in differenzierter Weise widerspiegeln und – klassisch aufbereitet – der Öffentlichkeit themenzentriert transparent machen.

Im Mittelpunkt jeder Ausgabe stehen die Wissenschaftler*innen der Universität Duisburg-Essen mit ihren Originalbeiträgen und -berichten. Die Ausgaben orientieren sich dabei an den Herausforderungen, vor denen einzelne Fächer gegenwärtig stehen, wie auch an aktuellen wissenschaftlichen Zeitfragen, zu denen eine Universität insgesamt und nicht zuletzt auf Grund ihres öffentlichen Auftrags Stellung beziehen sollte.

Die UNIKATE erscheinen ausschließlich in Form von Themenheften; bisher hat sich die Reihe unter anderem mit der Krebsbehandlung, der Herz-Kreislaufmedizin, den Entwicklungen im Kommunikations- und Industrial Design, Risikoforschung, der Wasserforschung, dem Kräfteverhältnis zwischen Bildung und Wissenschaft, der Chaosphysik, den Materialwissenschaften, dem Lebensraum Ruhrgebiet, der sich herausbildenden europäischen Gesellschaft und der Bildungsforschung beschäftigt. Durch die Konzentration auf jeweils ein Fachgebiet oder ein interdisziplinär ausgeleuchtetes Thema können wissenschaftliche Sachverhalte breiter dargestellt und komplexe Zusammenhänge fächerübergreifend verständlich erläutert werden.

Die UNIKATE werden vom Rektorat der Universität Duisburg-Essen in einer Auflage von derzeit 4.500 Exemplaren herausgegeben. Ansprechpartner für alle redaktionellen Belange sowie für Vertrieb und Anzeigenverwaltung ist das SSC – Science Support Centre an der Universität Duisburg-Essen. Das Magazin ist zum Preis von 7,50 € im Buchhandel erhältlich. Im Abonnement (zwei Ausgaben pro Jahr, 12,50 €) sind die UNIKATE über die Heinrich-Heine-Buchhandlung, Viehofer Platz 8, 45127 Essen zu beziehen.

UNIKATE

IMPRESSUM

Herausgegeben mindestens zweimal jährlich vom Rektorat der Universität Duisburg-Essen, 45117 Essen.

Auflage: 4.500

Redaktions- und Verlagsanschrift:
UNIKATE
Universität Duisburg-Essen/
Wissenschaftsverlag SSC
Science Support Centre
45117 Essen
Tel.: 02 01/1 83-32 54
Fax: 02 01/1 83-46 94
E-Mail: unikate@uni-duisburg-essen.de

Wissenschaftlicher Beirat:
Prof. Dr.-Ing. Dieter Brillert, Prof. Dr. Dr. Dagmar Führer-Sakel, Prof. Dr. Eckart Hasselbrink, Prof. Dr. Christoph Marx, Prof. Dr.-Ing. Jörg Schröder, Prof. Dr. Anja Weiß, Prof. Dr. Heiko Wende, Prof. Dr. Astrid Westendorf

Federführung der Ausgabe 54:
Prof. Dr. Astrid Westendorf
Redaktion: Dr. Barbara Bigge (verantw.)
Korrektorat: Catharina Yacoub
Layout/Grafik: Paran Pour, mail@paranpour.com
Gestaltungskonzept: Prof. Vilim Vasata
Fotografie und Bildbearbeitung: Vladimir Unkovic
Druck: B&W, Bochum
Buchhandels- und Abonnementvertrieb:
Heinrich-Heine-Buchhandlung, Viehofer Platz 8, 45127 Essen; Tel.: 02 01/820 70-0; Fax: 820 70-16; E-Mail: heine.buchhandlung@t-online.de

Einzelverkaufspreis (Buchhandel): 7,50 €
Abonnement (2 Hefte/Jahr, inkl. Versand): 12,50 €
Die UNIKATE finden Sie im Internet unter:

www.uni-duisburg-essen.de/unikate

Gedruckt auf chlorfreiem Papier. Nachdruck und Reproduktion von Text, Fotos und Grafiken nur nach Abstimmung mit der Redaktion. Die Redaktion bemüht sich regelmäßig, die Rechteinhaber von veröffentlichten, jedoch nicht selbst erstellten Bild- und Grafikbeiträgen zu ermitteln und die Rechte abzugelten. Bei nicht zu ermittelnden oder inkorrekt angegebenen Nachweisen bitten wir um Nachsicht. Alle Rechte vorbehalten.

ISBN: 978–3–934359–54-3
ISSN: 1869–3881

© Universität Duisburg-Essen
Gerichtsstand: Essen

DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT DUISBURG ESSEN

Offen im Denken

ub | universitäts bibliothek

Dieser Text wird über DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt. Die hier veröffentlichte Version der E-Publikation kann von einer eventuell ebenfalls veröffentlichten Verlagsversion abweichen.

DOI: 10.17185/duepublico/71627
URN: urn:nbn:de:hbz:464-20201014-170954-2

Alle Rechte vorbehalten.