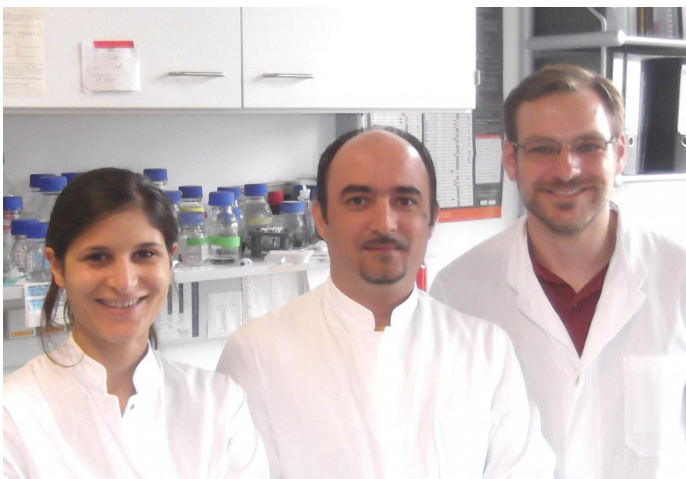


CDT: Bakteriengift liefert eigene Tür, um in die Zelle zu kommen

Bei gesunden Menschen ist Clostridium difficile völlig harmlos. In Kombination mit Antibiotika kann es jedoch bei älteren und geschwächten Menschen schwere Durchfälle und Darmentzündungen verursachen. Aber wie entfaltet das sporenbildende Stäbchenbakterium seine Kraft? Und wie kommt es überhaupt in die Zelle? Das untersucht Privatdozent Dr. Panagiotis Papatheodorou mit seinen Kollegen am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität Freiburg bei Prof. Dr. Klaus Aktories. Dabei klärte er den Mechanismus auf, wie ein Gift des Bakteriums in Zellen der Darmschleimhaut gelangt. Er liefert so eventuell neue Ansätze zur Therapie.

Bekannt ist Clostridium difficile als sogenannter nosokomialer Erreger, als einer der häufigsten Krankenhauskeime. Denn obwohl er in vielen von uns als unauffälliger Mitbewohner im Darm weilt, kann er unter bestimmten Voraussetzungen Durchfälle verursachen, die lebensbedrohlich sein können. Normalerweise verhindern andere Bakterien in unserer Darmflora, dass Clostridium difficile Überhand gewinnt. Werden durch Antibiotika unschädliche Bakterien im Darm zurückgedrängt, entstehen Lücken. Der manchen Antibiotika gegenüber resistente Darmerreger kann sich dann stark vermehren und beginnt, Toxine zu produzieren und die anderen zu überwuchern. Zum Ausbruch der Krankheit kommt es vor allem in Kliniken, da hier die Menschen anfälliger sind. Westliche Länder melden eine Zunahme hypervirulenter Clostridium-difficile-Stämme auch außerhalb von Krankenhäusern, die gesunden und jungen Menschen ohne antibiotische Behandlung zusetzen können und schwieriger zu behandeln sind.



Hypervirulenz bei Clostridium difficile

Die Gifte Enterotoxin A und Zytotoxin B von Clostridium difficile zerstören die Darmzellen und führen zu Flüssigkeitsverlust im Darm. Dies geschieht durch Schädigung des Zellskeletts. „Die Toxine inaktivieren Schaltermoleküle, die das Zytoskelett kontrollieren“, erklärt Dr. Panagiotis Papatheodorou vom Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie

Arbeitsgruppenleiter PD Dr. Panagiotis Papatheodorou (Mitte) erforscht mit den beiden Doktoranden Sarah Hemmasi (links) und Bernd Czulkies (rechts) die Aufnahme von CDT.

© Dr. Panagiotis Papatheodorou, Universität Freiburg.

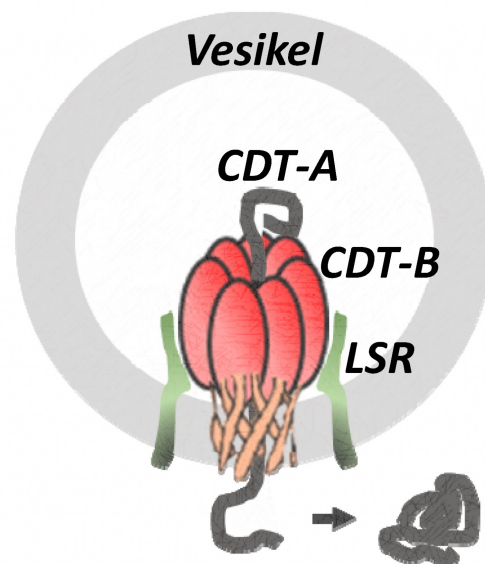
und Toxikologie der Universität Freiburg, „und so geht die Zellintegrität verloren.“ Dadurch verursachen Toxin A und B die Antibiotika-assoziierte Diarrhö sowie im schweren Verlauf eine lebensbedrohliche Darmentzündung, bei der es außer zur Darmausweitung auch zur Auflösung der

Darmwände und zur Sepsis kommen kann. Eine erhöhte Virulenz findet man in den Stämmen, deren Giftproduktion fehlreguliert ist und die so ein Vielfaches der Toxinmenge herstellen. Seit 2001 breitet sich der Ribotyp 027 aus, ein neuer hypervirulenter Stamm, der zusätzlich zu den überproduzierten Giften noch ein drittes Toxin, das CDT (Clostridium-difficile-Transferase) bildet. Dies ist ein Toxin, das aus zwei Teilen besteht, der CDT-A- und der CDT-B-Komponente, die nur gemeinsam ein funktionelles Gift bilden. Innerhalb der Zelle setzt CDT direkt am Aktin an, dem Hauptbestandteil des Zytoskeletts. Dort überträgt es eine ADP-Ribose auf das Aktin (ADP-Ribosylierung). Diese Zuckeranheftung inaktiviert das Strukturprotein, wodurch es in seine Monomere zerfällt und kein zusammenhängendes Gerüst mehr bilden kann (Depolymerisation). Nicht bekannt war hingegen, wie CDT es schafft, in die Zelle zu gelangen.

Toxine dringen in die Zelle

Aktories und Papatheodorou konnten 2011 den Rezeptor identifizieren, mit dem es dem CDT-Toxin gelingt, ins Zellinnere zu kommen. LSR (lipolysis-stimulated lipoprotein receptor) ist ein Oberflächenrezeptor auf Zellen der Darmschleimhaut, an den CDT bindet. Papatheodorou hat mit seinem Team nun die molekulare Wechselwirkung zwischen Gift und Rezeptor aufgeklärt. „Wir haben sowohl auf der Toxinseite den Bereich identifiziert, der für die Interaktion mit dem Rezeptor wichtig ist, als auch auf Rezeptorseite den Teil, der mit dem Toxin wechselwirkt“, sagt der Wissenschaftler. Die natürliche Funktion von LSR ist noch nicht vollständig geklärt. Eine Hypothese besagt, dass er für die Aufnahme von Lipoproteinen ins Zellinnere zuständig ist; allerdings gibt es da deutlich effektivere Rezeptoren.

Neuere Erkenntnisse deuten darauf hin, dass LSR für Zell-Zell-Kontakte dort wichtig ist, wo drei Zellen aufeinandertreffen. Tricellular-Junctions verbinden immer drei Zellen miteinander, wo ein guter Verschluss wichtig ist, damit das Zellepithel absolut dicht bleibt. Bei ihrer Suche nach dem CDT-Transfer in die Zelle haben die Forscher festgestellt, dass die Bereiche von Toxin und Rezeptor, die miteinander in Kontakt treten, kleiner sind als bisher angenommen. Im Toxin genügt die CDT-B-Komponente, an den Rezeptor zu binden, wohingegen die A-Komponente den enzymatisch aktiven und somit giftigen Bereich enthält, der die ADP-Ribosylierung vornimmt. Die Bindedomäne bildet Oligomere und bindet vermutlich als ringförmiges Heptamer mit sieben Einzelmolekülen an LSR. Erst dann bindet die A-Domäne an den Komplex und es schnürt sich ein Vesikel ab, das sowohl beide CDT-Komponenten als auch den Rezeptor enthält und alles wie in



Nach Bindung an LSR wird der Toxin-Rezeptor-Komplex an der Zelloberfläche in Vesikeln ins Zellinnere abgeschnúrt. Das CDT-B-Heptamer bildet in Vesikeln eine Pore aus, die dann den Durchtritt von CDT-A ins Zytosol erlaubt.
© Dr. Panagiotis Papatheodorou, Universität Freiburg.

einem Fahrstuhl in die Zelle transportiert. Im Vesikel bildet sich im Kreis des Heptamers eine Pore durch die Membran aus, durch welche die enzymatische A-Komponente zum Aktin ins Zytosol gelangt. „Ein sehr interessanter Mechanismus“, findet Papatheodorou, „das Toxin bringt seine eigene Tür mit, um aus dem Fahrstuhl wieder auszusteigen, wenn es am Ziel ist.“

CDT verursacht Pathogenadhäsion

Schon früher beobachteten die Wissenschaftler einen weiteren Effekt von CDT. Direkt unter der Membran im Zellkortex befindet sich besonders viel Aktin, da die Membran gestützt werden muss. Weiter in Richtung Zellinneres, wo kortikales Aktin weniger wird, gibt es mehr Mikrotubuli, eine zweite Bausubstanz, die wichtig für das Gerüst ist. Wird jetzt die Zellmembran destabilisiert, weil Aktinpolymere zerfallen, „schießen die Mikrotubuli heraus, die Membran stülpt sich nach außen und es entstehen kleine Fortsätze der Zelle, die wie Härchen aussehen“, sagt Papatheodorou, „und wenn viele von diesen Härchen da sind, verfangen sich die Bakterien darin und bleiben hängen.“ Damit bleiben die Erreger besser am Darmepithel haften, Adhäsion und Kolonisation werden erleichtert. „Unter einem Toxin versteht man meist etwas, das unmittelbar einen großen Schaden anrichtet“, sinniert der Toxikologe, „aber hier könnte es sein, dass es etwas in der Zelle verändert, das für das Bakterium von Vorteil ist.“

Papatheodorou und sein Team untersuchen hauptsächlich die Toxine der Bakterien, mit den Erregern selbst haben sie kaum zu tun. Sie können das Gen für CDT in andere harmlose Spezies wie *Bacillus megaterium* einschleusen und die beiden Komponenten darin getrennt voneinander rekombinant herstellen, isolieren und den Effekt in Darmkrebszelllinien untersuchen. „Toxisch wird CDT nur, wenn beide Komponenten zusammenkommen“, betont der Forscher. So möchte er herausfinden, ob die CDT-Bindung an den Rezeptor bewirkt, dass es zur Auflockerung zwischen den Zellen kommt. Ideen für potenzielle Therapien gibt es bereits in Form von Antikörpern oder kleinen Peptiden, die entweder die Rezeptorbindedomäne oder die Stelle im LSR blockieren, an der die Interaktion stattfindet. Damit werde das Toxin abgefangen, bevor es seine Wirkung entfaltet. Da viele Erreger gegen Antibiotika resistent sind, wäre es eine elegante Lösung, direkt am Toxin anzusetzen. „Wünschenswert wäre, die Toxine in ihrer Wirkung abzuschwächen, indem man ihre Aufnahme in die Zelle hemmt“, so Papatheodorou.

Fachbeitrag

17.08.2015

Stephanie Heyl

BioRegion Freiburg

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

PD Dr. Panagiotis Papatheodorou

Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Universität Freiburg

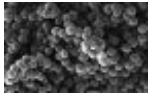
Albertstr. 25

79102 Freiburg

Tel.: 0761 / 203 5308

E-Mail: panagiotis.papatheodorou(at)pharmakol.uni-freiburg.de

Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Multiresistente Erreger - eine selbstverschuldete Bedrohung?