

1 EINLEITUNG

1.1 Die Pneumonie

Die Pneumonie ist weltweit die dritthäufigste Todesursache und die häufigste Todesursache durch Infektionskrankheiten in den Industrieländern. Sie hat hier eine Inzidenz von etwa 1 % [1]. In den Entwicklungsländern sterben pro Jahr etwa 2 Millionen Kinder an einer Lungenentzündung [2].

Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie werden überwiegend auch ambulant behandelt. Dabei liegt die Mortalität in Industrieländern in der Regel unter 1 % [3]. Jedoch kam es z.B. 2004 in Deutschland auch zu 238.659 Krankenhauseinweisungen wegen Pneumonie. Das sind deutlich mehr als etwa für Myokardinfarkte (132.501) oder Schlaganfälle (161.758) (Statistisches Bundesamt). Bei den Patienten, die stationär behandelt werden müssen, steigt die Mortalität auf über 12 % an [1]. Dabei wird die Letalität wesentlich durch Komorbiditäten, wie die chronisch obstruktive Lungenerkrankung oder sonstige Risikofaktoren, wie ein hohes Alter, mitbestimmt [3].

Die nosokomial erworbene Pneumonie macht 15 % aller Krankenhausinfektionen aus [4]. Ihre Mortalität liegt signifikant höher, etwa bei 30 %, wobei nur in einem Teil der Fälle die Pneumonie tatsächlich die Todesursache ist [5]. Dabei stellt eine künstliche Beatmung einen Risikofaktor für besonders schwere Verläufe einer nosokomialen Pneumonie mit hoher Mortalität dar [4]. Die Ventilator-assoziierte Pneumonie tritt bei bis zu 47 % aller Beatmungspatienten auf und verlängert die Liegedauer der Patienten deutlich. Die Mortalität bei dieser Pneumonief orm ist bei Patienten nach kardiochirurgischen Eingriffen am höchsten [6].

Ambulant und nosokomial erworbene Pneumonien stellen eine bedeutende Belastung der öffentlichen Gesundheitssysteme dar [7]. Allein die ambulant erworbene Pneumonie führt in den USA zu jährlich 10 Millionen Arztkontakten, 64 Millionen Krankheitstagen und 600.000 Krankenhausaufnahmen und verursacht damit Kosten in Höhe von 20 Milliarden US\$ pro Jahr [8].

Diese Probleme werden in der Zukunft durch neu auftretende Antibiotikaresistenzen typischer Pneumonieerreger einerseits und eine zunehmende Zahl durch Alter, Komorbidität oder Medikamente immunkompromittierter Patienten andererseits noch

verstärkt [1]. In Deutschland sind mehr als 30 % der ambulant erworbenen Pneumonien durch *S. pneumoniae* bedingt (Abb. 1, www.capnetz.de 2006).

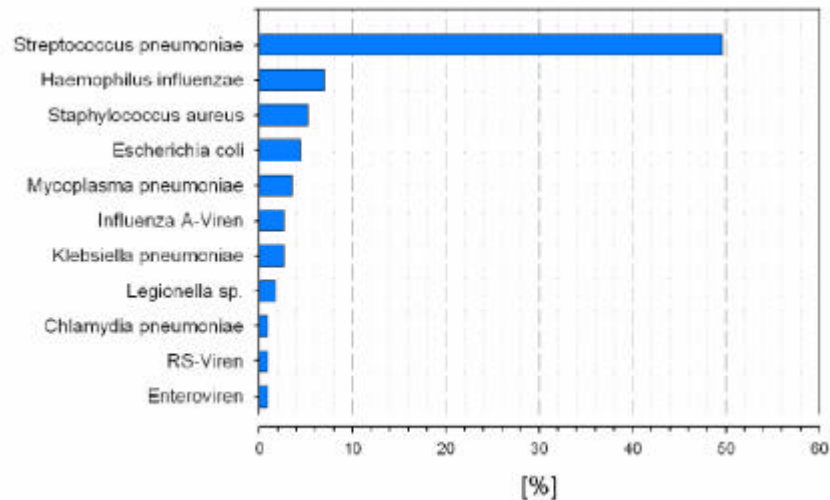


Abb. 1: Erregernachweis in qualitativ hochwertigen Sputa von Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie in der Capnetz-Studie (www.capnetz.de 2006)

1.2 Mikrobiologie von *S. pneumoniae*

Pneumokokken sind lanzettförmige grampositive α -hämolisierende Streptokokken, die als Diplokokken (in der Gramfärbung des Sputums) oder in Ketten (Abb. 2, Morphologie während der Vermehrung im flüssigen Wachstumsmedium) vorkommen. Sie wurden 1881 von G. Sternberg (USA) und L. Pasteur (Frankreich) gleichzeitig entdeckt.

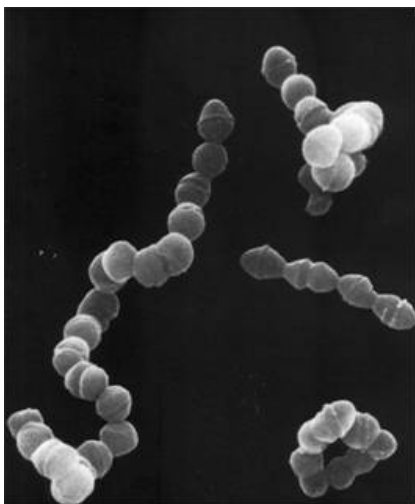


Abb. 2 Kettenbildende *S. pneumoniae* mit einer Größe von 0,5- 1,25 μm .

<http://genome.microbio.uab.edu/strep/info/strep5.gif>

Die klassische Identifizierung der Pneumokokken erfolgt anhand der α -Hämolyse auf Blutagar-Platten, Fehlen von Katalase und Hemmung ihres Wachstums durch Optochin und Galle. Sie verfügen in der Regel über eine Kapsel, eine Zellwand aus Peptidoglykan und Teichonsäure (C-Substanz) und an der Bakterienoberfläche exprimierte Proteine (PsaA, PspA, CbpA), von denen viele an der Pathogenität beteiligt sind.

Alle klinisch relevanten Stämme besitzen eine Kapsel, werfen diese aber bei enger Interaktion mit Epithelzellen und einer Invasion in diese ab [9]. Optisch sehen die bekapselten Kolonien glänzend glatt aus (S-Form aus dem englischen smooth). Die unbekapselten haben eine raue Oberfläche (R-Form aus dem englischen rough). Die Kapsel besteht aus Polysacchariden, die im Zytoplasma als Oligosaccharide synthetisiert, polymerisiert und an der Oberfläche durch kovalente Bindungen in der Zellwand verankert werden. Durch die unterschiedlichen Antigeneigenschaften der Polysaccharide werden die Pneumokokken in der Reihenfolge ihrer Entdeckung in die Serotypen 1 bis 90 aufgeteilt (amerikanische Einteilung) oder nach Antigenähnlichkeit in 21 Serogruppen (dänischen Einteilung), die 2-5 verwandte Serotypen enthalten, eingeteilt. Die Serogruppe 19 beinhaltet zum Beispiel die Typen 19F, 19A, 19B und 19C, wobei F zuerst beschrieben wurde. In diesen Serogruppen befinden sich 65 der insgesamt 90 Serotypen, die restlichen 25 werden einzeln geführt.

Verschiedenen Proteine werden als Pathogenitätsfaktoren beschrieben, u.a. Hyaluronsäure, Neuraminidase A und B [10], cholinbindendes Protein A [11], Pneumokokken-Oberflächenantigen A [12], Pneumokokken-Oberflächenprotein A [13] auf der Zellwand und Pneumolysin [14] im Zytoplasma.

Pneumolysin, ein 53 kDa großes Protein, kommt in allen klinisch relevanten Pneumokokkenstämmen vor und gehört zu der Gruppe der thiolaktivierten Zytolysinen, die überwiegend von grampositiven Bakterien gebildet werden. Es wird aus dem Zytoplasma nach Autolyse der Pneumokokken durch die Autolysine freigesetzt [15], evtl. auch aktiv sezerniert [16].

1.3 Pneumokokken als Infektionserreger

Infektionen durch *S. pneumoniae* sind weltweit eine häufige Ursache für Morbidität und Mortalität [7]: Pneumonien (s. Abb. 3), febrile Bakteriämien und Meningitiden

sind die häufigsten schweren Manifestationen einer Pneumokokkeninfektion, während Mittelohrinfektionen oder obere Atemwegsinfekte noch häufiger, aber nicht so schwerwiegend sind [1]. Allein in den USA treten jährlich 7 Millionen Fälle von *S. pneumoniae*-bedingter Otitis media und 500.000 Pneumonien auf [17]. Obwohl alle Altersgruppen betroffen sind, treten die Infektionen am häufigsten bei Kindern oder älteren Menschen auf. Darüber hinaus sind Menschen mit chronischen Erkrankungen oder Immundefizienzen besonders gefährdet [3]. Mit ca. 1 Millionen jährlichen Todesfälle durch Atemwegsinfektionen bei Kindern sind Pneumokokken auch die wichtigsten frühkindlichen Krankheitserreger in Entwicklungsländern [1].

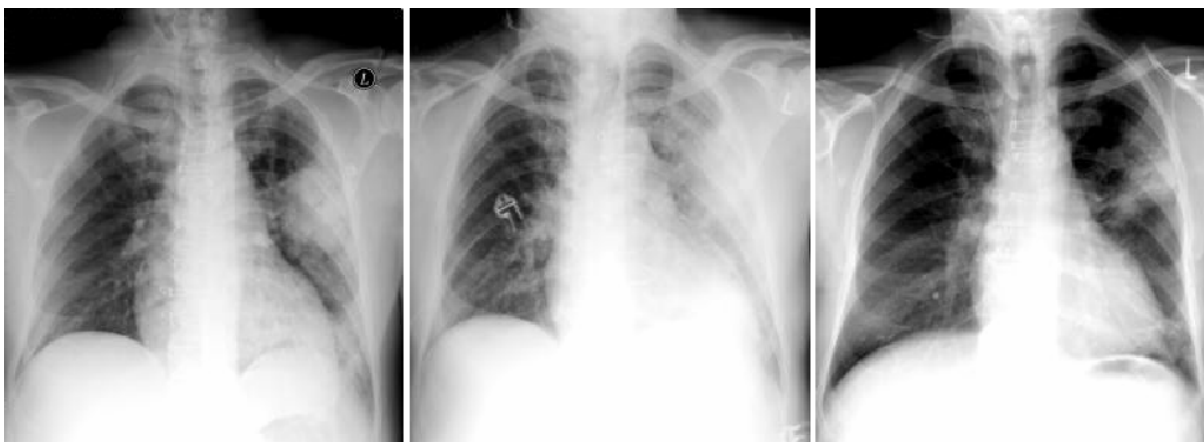


Abb. 3: Verlauf einer schweren ambulant erworbenen Lobärpneumonie durch *S. pneumoniae*. Röntgen-Thorax-Aufnahmen an Tag 1, 2 und 5 des Krankenhausaufenthaltes unter Behandlung mit Moxifloxacin.

In Europa und den USA beträgt die Morbidität der Pneumokokkenpneumonie etwa 100 von 100.000 Erwachsenen, während sie für febrile Bakteriämien mit 15-19 und für Meningitis mit 1-2 angegeben wird [17]. Auch in diesen wirtschaftlich hochentwickelten Ländern ist die Mortalität invasiver Pneumokokkeninfektionen hoch. In der präantibiotischen Ära betrug die Mortalität einer Pneumokokkenbakteriämie fast 80 % [18]. Für Erwachsene mit Pneumokokkenpneumonie beträgt sie heute 10-20 %, in Risikogruppen über 50 %. Damit ist die Pneumonie die mit Abstand häufigste Ursache für Bakteriämie und Tod durch Pneumokokkeninfektionen [1].

Wichtige unabhängige Risikofaktoren bei Erwachsenen sind neben der Asplenie der aktive oder passive Nikotinkonsum, Alkoholismus, sowie Herz- und

Lungenerkrankungen. Auch HIV-infizierte Patienten haben ein 10- bis 100fach erhöhtes Risiko für eine Pneumokokkenpneumonie und -bakteriämie [19, 20].

Durch Unterschiede in der Zusammensetzung der Polysaccharidkapsel werden etwa 90 Serotypen unterschieden [17]. Aktuelle Daten implizieren dass die 11 häufigsten Serotypen weltweit für mindestens 75 % der invasiven Erkrankungen verantwortlich sind [21]. Während zu Beginn des 20. Jahrhunderts die Serotypen 1, 2 und 3 über 75% der schweren Pneumokokkeninfektionen verursachten, sind heute in den Industrieländern die Serotypen 1, 3, 4, 6A/B und 14 für etwa 40 % der invasiven Infektionen bei Erwachsenen verantwortlich [1]. Bei Kindern kommen v.a. die Serotypen 6, 14, 18, 19 und 23 vor [22]. Eine Ursache für den Wechsel der vorherrschenden Serotypen mag der Infektionsweg sein: Früher überwogen epidemische Ausbrüche hochimmunogener Serotypen in suszeptiblen Populationen, während der heute wichtigere Infektionsweg über Kleinkinder mit Trägerstatus die weniger immunogenen Stämme bevorzugt [23]. Interessant ist hier, dass die Impfung von Kleinkindern auch die Häufigkeit invasiver Pneumokokkeninfektionen bei ungeimpften Erwachsenen reduziert [24]. Doch auch heute kann noch eine starke lokale Dynamik beobachtet werden: So ging Anfang der 90er Jahre eine deutliche Zunahme invasiver Infektionen in Schweden mit einem 10fachen Anstieg der Serotyp 1-Isolate einher [25].

Die Übertragung der Pneumokokken erfolgt überwiegend durch direkten Kontakt mit dem Nasensekret Erkrankter oder gesunder Träger. Etwa 50 % der Kleinkinder sollen besiedelt sein [26]. Während es in der Regel nach einer solchen Pneumokokkenexposition nur zur einer transienten Besiedlung kommt, kann bei für den jeweiligen Serotyp empfindlichen Individuen eine Ausbreitung in die Sinus und das Mittelohr oder gar eine Penetration der Mukosa mit nachfolgender Bakteriämie erfolgen.

Da Immunität nur über serotypspezifische Antikörper vermittelt wird, steht für Erwachsene ein 23valenter Polysaccharidimpfstoff zur Verfügung, der 90 % aller invasiven Stämme abdeckt. In immunkompetenten Erwachsenen soll die Effektivität 50-80 % betragen [1], während sie bei immunkompromittierten Patienten, z.B. nach HIV-Infektionen, deutlich niedriger liegt. Für die Impfung von Kleinkindern ist ein proteingekoppelter Impfstoff notwendig [27]. Hier ist es allerdings bisher nicht gelungen, mehr als 11 der bekannten 90 Serotypen abzudecken; der aktuell verwendete Impfstoff ist heptavalent. Dies birgt das Risiko, durch Selektionsdruck

einen Serotypwechsel herbeizuführen. Eine vermehrte Besiedelung mit nicht abgedeckten Serotypen wurde bereits beobachtet [28]. Zudem sind Pneumokokken natürlich transformierbar [29] und wechseln so offenbar nicht selten ihre Kapsel­eigenschaften [30].

Ein zentrales Problem der Therapie sind die zunehmenden Resistenzen gegen pneumokokkenwirksame Antibiotika wie Penicilline, Cephalosporine, Fluorchinolone und Makrolide. Sogar gegen Vancomycin wurde eine Toleranz beobachtet [31]. In den 1970er Jahren wurden einzelne penicillinresistente Isolate aus Südafrika und Spanien beschrieben. Heute sind weltweit 20-30 % der Pneumokokken gegen 3 oder mehr Antibiotika resistent [31]. In Spanien sind etwa 50 % der *S. pneumoniae*-Isolate penicillinresistent, in Hongkong 69 % [31]. Dabei konnten sich einzelne resistente Klone weltweit pandemisch ausbreiten. Ein vor 20 Jahren in Spanien prävalenter multiresistenter Serotyp 23F-Klon trägt so heute wesentlich zur weltweiten Betalactamresistenz bei und wird durch natürliche Transformation auch mit den Kapseltypen 3, 9N, 14, 19 A und 19F gefunden [32]. In den USA sind die häufigsten resistenten Klone France^{9V}-3, England¹⁴-9, Spain^{23F}-1, Spain^{6B}-2, und Tennessee^{23F}-4. Auch die Resistenzgene anderer Streptokokken können auf *S. pneumoniae* übertragen werden [31].

Obwohl weltweit Behandlungsversagen berichtet werden, ist die klinische Bedeutung der Resistenzen aufgrund von Überlagerungseffekten der verschiedenen Bakterien- und Wirtsfaktoren bis heute schwer einzuschätzen. Bei schweren Pneumokokkeninfektionen wird jedoch in vielen Leitlinien eine Kombinationstherapie von Betalactamen, Makroliden und ggf. Vancomycin empfohlen [31].

1.4 Pulmonale Immunität

Die Lunge steht mit einer sehr großen Oberfläche (200 m²) in Kontakt mit unserer Umwelt - Gase, Aerosole und Partikel verschiedenster Größe, die Allergene, Noxen und mikrobielle Pathogene darstellen können und sorgsam durch die angeborene und erworbene Immunität kontrolliert werden müssen [33]. Zugleich weist sie eine sehr grazile mikroskopische Struktur mit engster Nachbarschaft von unterschiedlich differenzierten Epithelzellen, Fibroblasten, Endothelzellen, ortständigen Makrophagen und einwandernden Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten auf

(Abb. 4), deren Intaktheit essentiell für die Funktion des Gasaustausches ist und bewahrt werden muss [34].

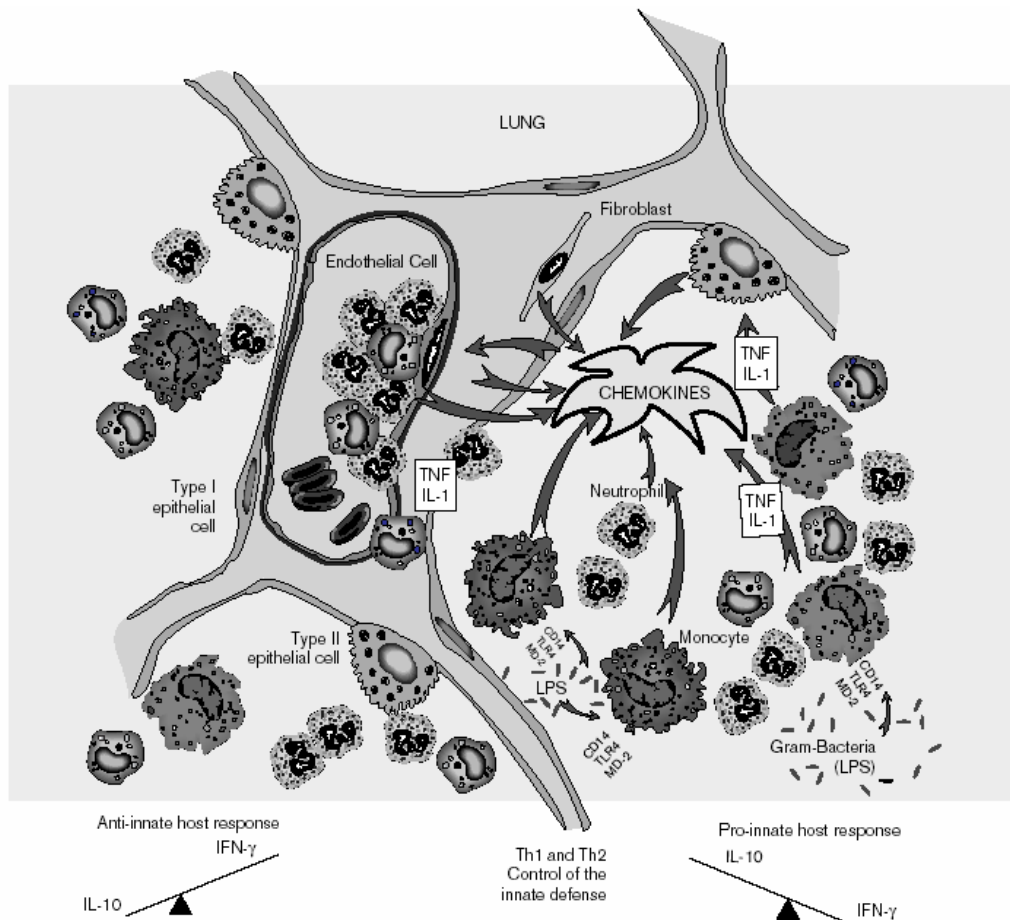


Abb. 4: Die angeborene Infektabwehr in der Lunge (aus [33])

Die Erkennung von eindringenden Mikroorganismen und die Mediatorfreisetzung durch Parenchymzellen sind zentrale Ereignisse der initialen Immunantwort [33, 35-37]. Um die Abwehr des Wirts jedoch voll zu aktivieren, muss es zur Freisetzung spezifischer Zytokinmuster kommen [33]. Dazu werden nach der Pathogenerkennung frühe Zytokine freigesetzt, die das Signal amplifizieren und weitere Zellen in die Immunantwort einbinden [37]. Speziell die Rekrutierung und Extravasation von Leukozyten an dem Ort der Infektion ist eine wichtige Funktion chemotaktischer Botenstoffe und von zentraler Bedeutung für die Eindämmung der bakteriellen Invasion. CXC-, CC-, C- und CX3C-Zytokine gehören zu eng verwandten Polypeptidfamilien und sind potente chemotaktische Faktoren für alle Leukozyten, z.B. IL-8 für Neutrophile und MCP-1 für Makrophagen [38]. Weiter hat die Beobachtung, dass T-Helferzellpopulationen nach den von ihnen produzierten Zytokinen klassifiziert werden können, zu einer weiteren Unterteilung der – auch von

Parenchymzellen produzierten - Zytokine nach ihrer Funktion im Übergang von der angeborenen zur adaptiven Immunantwort geführt [38]: T_H1-Zytokine aktivieren Makrophagen und Neutrophile Granulozyten und fördern die Aktivität professioneller Phagozyten und der zellgebundenen Immunität. Im Gegensatz dazu hemmen T_H2-Zytokine viele Funktionen der zellgebundenen Abwehrreaktion und fördern die humorale Immunantwort und die Antikörperproduktion [39]. Die Freisetzung von Chemokinen und die Expression von Chemokinrezeptoren sowohl durch Parenchym als auch durch klassische Immunzellen in der Lunge implizieren eine zentrale Rolle der Botenstoffe in der Orchestrierung der pulmonalen Immunantwort [37]. Die Balance dieser Zytokingruppen moduliert den Verlauf der Wirtsantwort auf eine Infektion.

1.5 Lungenepithel

Das Atemwegs- und Lungenepithel bildet die Grenze zwischen der Umwelt und dem Wirtsorganismus und stellt damit auch die erste Verteidigungslinie der angeborenen Immunität dar [34]. Es dient nicht nur als mechanische Barriere, sondern ist auch zur Früherkennung von Atemwegserregern und Initiierung einer Immunantwort prädisponiert (Abb. 4) [33].

Das mehrreihige oder mehrschichtige tracheobronchiale Epithel besteht aus zilienträgenden Zellen, sekretorischen Becherzellen und Zellen mit Mikrovilli und konstituiert so die mukoziliäre Clearance. Die Bronchiolen werden von kuboidalem Epithel und sekretorischen Clarazellen ausgekleidet, während das Alveolarepithel aus Typ I- und Typ II-Zellen besteht.

Etwa 95 % der internen Lungenoberfläche besteht aus alveolären Typ I-Zellen. Sie sind über ihre Basalmembran mit Endothelzellen der Alveolarkapillaren verbunden und bilden zusammen mit diesen die Gasaustauschbarriere.

Alveoläre Typ II-Zellen erfüllen eine Vielzahl an Funktionen, etwa die Steuerung des pulmonalen Surfactant-Systems [40] und des alveolären Flüssigkeitsgehalts [41]. Außerdem ersetzen sie die Typ I-Zellen [42].

Obwohl hierzu systematische Untersuchungen fehlen, ist anzunehmen, dass die verschiedenen differenzierten Lungenepithelzellen unterschiedlich und zelltypisch auf verschiedene Atemwegskeime reagieren. Dazu mögen Unterschiede im Besatz mit Pathogenerkennungsrezeptoren, das Repertoire an antibakteriellen oder

chemotaktischen Mediatoren [34, 43] sowie ihre Empfindlichkeit gegen bakterielle Virulenzfaktoren beitragen [44].

Obwohl Pneumokokken als wichtigste Pneumonieerreger in direktem Kontakt mit tracheobronchialen und alveolären Epithel stehen, sind die molekularen Mechanismen und funktionellen Konsequenzen dieser Interaktion bisher nicht untersucht worden.

In Anbetracht der enormen weltweiten Morbidität und Mortalität der Pneumokokkenpneumonie und der zunehmenden Zahl von Antibiotikaresistenzen bei *S. pneumoniae* erscheint eine detaillierte Untersuchung der Interaktion zwischen Pneumokokken und dem Lungenepithel notwendig. Sie kann als Basis für neue rationale Therapiestrategien dienen.

1.6 Signalwege der Immunreaktion

Mikroorganismen präsentieren an ihrer Oberfläche molekulare Muster, die sie von anderen Pathogenen und vom Wirt unterscheiden [45]. Auf der Seite des Wirts gibt es phylogenetisch konservierte Rezeptoren zur Erkennung und Unterscheidung dieser Muster, etwa die transmembranär auf der Zelloberfläche oder in Organellen lokalisierten „Toll-like“-Rezeptoren [36, 46] oder zytosolische Caterpillar-Rezeptoren, wie Nod1 und Nod2 [47, 48]. TLR2 erkennt z. B. Oberflächenmuster von grampositiven Bakterien, TLR4 erkennt u.a. das Lipopolysaccharid gramnegativer Keime und TLR3, 7, 8 und 9 erkennen Nukleinsäuren [45].

Die Reaktion der Wirtszelle auf die Pathogenerkennung wird aus der Aktivierung von Signalkaskaden, z.B. von Kinasen zur schnellen Signalweiterleitung in der Zelle, und verschiedenen Transkriptionsfaktoren integriert [35, 49]. Diese Signalwege bestehen in der Regel aus drei bis vier sich hierarchisch durch gegenseitige Phosphorylierung aktivierenden Kinasen, die nach ihrem jeweils zentralen Mitglied unterschieden werden: u.a. p38-, p42/44-, JNK und ERK5 Mitogen-aktivierte Proteinkinasen [50].

Ein zentraler proinflammatorischer Transkriptionsfaktor ist der nukleäre Faktor κ B (NF- κ B), der sowohl über seine zytosolische oder nukleäre Lokalisation als auch über posttranslationelle Modifikationen reguliert wird [51]: Der prototypische Inhibitor I κ B α sequestriert die Transkriptionsfaktorkomplexe, Homo- oder Heterodimere aus p65/RelA, p50, RelB, cRel u.a., im Zytosol. Erst seine Phosphorylierung durch den I κ B-Kinasen-Komplex, seine subsequente Ubiquitinierung und proteosomale

Degradierung ermöglicht die Freisetzung der NF- κ B-Komplexe, ihre Translokation in den Nukleus und Bindung an die DNA. Hier kann er jedoch nur an seine Koaktivatoren binden und die Transkriptionsmaschinerie rekrutieren, wenn er an distinkten Aminosäuren phosphoryliert (z.B. S276, S486, S536) oder azetyliert wurde [52]. Ein weiterer wichtiger inflammatorischer Transkriptionsfaktor ist das Aktivatorprotein (AP) 1, das sich u.a. aus Dimeren von cJun, JunB, Fos, Fra1 und Fra2 zusammensetzt, die zum Teil für ihre Aktivierung auch phosphoryliert werden müssen [53].