

Aus dem Institut für Neuropathologie
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Frank L. Heppner

HABILITATIONSSCHRIFT

Interaktion von bakteriellen Mikroorganismen mit Toll-like Rezeptoren und die Entstehung von Infektionskrankheiten

zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach

Experimentelle Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
der Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Nicolas Wolfgang Jörg Schröder
geboren am 18.04.1972 in Butzbach

Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

eingereicht am: Mai 2008

Öffentlich-wissenschaftlicher Vortrag: 25.06.09

Gutachter: 1. Prof. Dr. Burkhard Becher
 2. Prof. Dr. Ulrich Kalinke

Zusammenfassung

Das Angeborene Immunsystem stellt eine erste Barriere gegenüber eingedrungenen Mikroorganismen dar. Die Familie der Toll-like Rezeptoren (TLRs), deren Mitglieder unter anderem auf Antigen-präsentierenden Zellen exprimiert werden, spielt dabei, durch die Erkennung von konservierten mikrobiellen Strukturen, eine wichtige Rolle. Die Interaktion von TLRs mit ihren Liganden führt über die Aktivierung von MyD88 zur Anschaltung einer Signaltransduktions-Kaskade und anschließend zur Expression von zahlreichen Zytokinen, die eine schnelle Immunantwort einleiten, jedoch auch eine wichtige Rolle in der Modulation der Adaptiven Immunantwort spielen. In den hier vorgelegten Arbeiten wurde die Rolle von TLRs in der Entstehung und dem Verlauf von Infektionskrankheiten untersucht.

Wir konnten bis dato unbekannte Glykolipide aus Bakterien der Gattung *Treponema* isolieren und chemisch charakterisieren, die eine Freisetzung von Zytokinen in Abhängigkeit von CD14, dem Lipopolysaccharid Bindenden Protein (LBP) sowie TLR2 bewirken. Der gleiche Rezeptor-Komplex spielt auch bei der Erkennung von Lipoteichonsäure (LTA) aus Gram-positiven Bakterien sowie bakteriellen Lipoproteinen und Lipopeptiden eine wichtige Rolle.

Die Rolle der Erkennung von TLR2-Liganden durch LBP konnte in einem Mausmodell der Meningitis nachgewiesen werden, wobei LBP-defiziente Mäuse nach intrathekalen Gabe von Pneumokokken-Extrakten deutlich verminderte Entzündungsreaktionen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen zeigten. Darüber hinaus konnte in einem Modell der bakteriellen Pneumonie in MyD88-defizienten Mäusen eine prolongierte Entzündung mit gesteigerter Letalität gezeigt werden, was auf eine wichtige Rolle der TLR-abhängigen Signaltransduktion in der Bekämpfung von Infektionen hinweist.

Schließlich konnten wir zeigen, dass die Anwesenheit von genetischen Varianten von TLR2 oder -4, die mit einer verringerten zellulären Aktivierung einhergehen, mit einem veränderten Risiko bezüglich Inzidenz und Verlauf von Infektionskrankheiten assoziiert ist.

Diese Arbeiten zeigen die Grundprinzipien der Erkennung von Bakterien durch TLRs, und verdeutlichen darüber hinaus die Bedeutung der TLR-vermittelten Signaltransduktion für die Entstehung und den Verlauf von Infektionskrankheiten.

Summary

Innate Immunity acts as a first barrier against invading microorganisms. The family of Toll-like receptors (TLRs), which are also expressed on antigen presenting cells, is crucially involved in these processes via recognition of conserved microbial partial structures. The interaction of TLRs with their respective ligands causes the expression of multiple cytokines via a signal transduction cascade involving MyD88. This initiates not only a rapid immune response, but adaptive immune responses as well. Within the studies presented here, the role of TLRs in incidence and course of infectious diseases was studied.

We were able to isolate and characterize novel glycolipids from bacteria of the genus *Treponema*, which cause the release of cytokines via a pathway involving CD14, Lipopolysaccharide (LPS) Binding Protein (LBP) and TLR2. The same receptor complex is involved in the recognition of Lipoteichoic Acid (LTA) from Gram-positive bacteria as well as lipoproteins and lipopeptides as well.

The role of LBP in the recognition of TLR2-ligands was demonstrated in a murine meningitis model, where LBP-deficient mice displayed markedly reduced inflammatory responses after intrathecal injection of pneumococcal partial structures. Additionally, a prolonged inflammatory response combined with increased mortality could be shown in MyD88-deficient mice as compared to wild type mice in a model of pneumonia, indicating an important role of TLR-activation in combating infections.

Finally, we were able to show that the presence of genetic variants of TLR2 or -4, which cause a reduced cellular activation, are associated with different courses of infectious diseases.

This work demonstrates the basic principles of immune recognition of bacteria by TLRs, and furthermore clarifies the importance of TLR-mediated cellular activation for the incidence and course of infectious diseases.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung	7
1.1. Das Angeborene Immunsystem	7
1.2. Lipopolysaccharid und Toll-like Rezeptoren	8
1.3. TLR2 und seine Liganden	10
1.4. TLR-abhängige Signaltransduktions-Kaskaden	12
1.5. Auswirkungen einer TLR-Defizienz in Mausmodellen von Infektions- Krankheiten	13
1.6. Genetische Polymorphismen von TLRs und ihr Einfluss auf Ent- stehung und Verlauf von Infektionskrankheiten	14
2. Ergebnisse	16
2.1. Biologische und chemische Charakteristika von TLR-Liganden	17
2.1.1. Struktur-Funktions Analyse von Glykolipiden aus Spirochaeten	17
N.W.J. Schröder, B. Opitz, N. Lamping, K.S. Michelsen, U. Zähringer, U.B. Göbel, und R.R. Schumann. Involvement of Lipopolysaccharide Binding Protein, CD14, and Toll-like Receptors in the Initiation of Innate Immune Responses by <i>Treponema</i> Glycolipids. <i>J.</i> <i>Immunol.</i> , 165: 2683-2693. 2000.	
2.1.2. Biologische Charakteristika von LTA Gram-positiver Bakterien	18
N.W.J. Schröder, S. Morath, C. Alexander, L. Hamann, U. Zähringer, T. Hartung, U. B. Göbel, J. R. Weber, und R. R. Schumann. Lipoteichoic acid (LTA) of <i>S. pneumoniae</i> and <i>S. aureus</i> activates immune cells via toll-like receptor (TLR)-2, LPS binding protein (LBP) and CD14 while TLR-4 and MD-2 are not involved. <i>J. Biol. Chem.</i> , 278: 15587-15594. 2003	
2.1.3. Biologische Charakteristika von diacylierten und triacylierten Lipopeptiden	19
N.W.J. Schröder, H. Heine, C. Alexander, M. Manukyan, J. Eckert, L. Hamann, U.B. Gö- bel, und R.R. Schumann. Lipopolysaccharide binding protein binds to triacylated and dia- cylated lipopeptides and mediates innate immune responses. <i>J. Immunol.</i> 173: 2683- 2691. 2004	
2.2. Untersuchungen zur Auswirkung der TLR-vermittelten zellulären Aktivierung in <i>in vivo</i> Modellen	20
2.2.1. Hinweise auf eine Interaktion von TLR2-Liganden mit dem LPS-Bindenden Protein (LBP) in einem Mausmodell der Meningitis	20
J.R. Weber, D. Freyer, C. Alexander, N.W.J. Schröder, A. Reiss, C. Küster, D. Pfeil, E.I. Tuomanen und R.R. Schumann. Recognition of pneumococcal peptidoglycan: an ex- panded, pivotal role for LPS binding protein. <i>Immunity</i> , 19: 269-279. 2003	

2.2.2.	Auswirkungen des Fehlens von TLR-vermittelter Signaltransduktion in einem Infektionsmodell in der Maus	21
	Y. Naiki, K. S. Michelsen, N.W.J. Schröder, R. Alsabeh, A. Slepkin, W. Zhang, S. Chen, B. Wei, Y. Bulut, M.H. Wong, E.M. Peterson, und M. Arditì. MyD88 is Pivotal for the Early Inflammatory Response and Subsequent Bacterial Clearance and Survival in a Mouse Model of <i>Chlamydia pneumoniae</i> pneumonia. <i>J. Biol. Chem.</i> 280: 29242-29249. 2005	
2.3	Studien zur Auswirkung von TLR-Polymorphismen auf Inzidenz und Verlauf von Infektionskrankheiten	22
2.3.1.	Inzidenz und Effekt des Arg753Gln Polymorphismus des humanen TLR2	22
	N.W.J. Schröder, C. Hermann, L. Hamann, U. B. Göbel, T. Hartung, und R. R. Schumann. High Frequency of Polymorphism Arg753Gln of the Toll-like Receptor-2 (TLR-2) Gene Detected by A Novel Allele Specific PCR. <i>J. Mol. Med.</i> , 81: 368-372. 2003	
2.3.2.	Auswirkungen des Asp299Gly und Thr399Ile Polymorphismus des TLR4-Gens auf die Inzidenz der Parodontitis	23
	N.W.J. Schröder, D. Meister, V. Wolff, C. Christan, D. Kaner, V. Haban, P. Purrucker, C. Hermann, A. Moter, U.B. Göbel, and R.R. Schumann. Chronic Periodontal Disease is Associated with Single-Nucleotide Polymorphisms of the Human TLR-4 Gene. <i>Genes Immun.</i> 6: 448-451. 2005.	
2.3.3.	Der Arg753Gln Polymorphismus des humanen TLR2 vermindert die zelluläre Aktivierung durch <i>Borrelia burgdorferi</i> und schützt vor den Spätstadien der Borreliose	24
	N.W.J. Schröder, I. Diterich, A. Zinke, J. Eckert, C. Draing, V. v. Baehr, D. Hassler, S. Priem, K. Hahn, K.S. Michelsen, T. Hartung, G.R. Burmester, U.B. Göbel, C. Hermann, and R.R. Schumann. Heterozygous Arg753Gln Polymorphism of Human TLR-2 Impairs Immune Activation by <i>Borrelia burgdorferi</i> and Protects from Late Stage Lyme Disease. <i>J. Immunol.</i> 175: 2534-2540. 2005	
3.	Diskussion	
3.1.	Chemische und biologische Charakteristika von bakteriellen TLR-Liganden	25
3.2.	Einfluss der TLR-vermittelten Signaltransduktion auf die Immunantwort	27
3.3.	Einfluss von TLR-Polymorphismen auf Inzidenz und Verlauf von Krankheiten	29
3.4.	Ausblick	31
	Literaturverzeichnis	33
	Liste eigener Veröffentlichungen	43
	Danksagung	47
	Eidesstattliche Erklärung	48

Abkürzungsverzeichnis

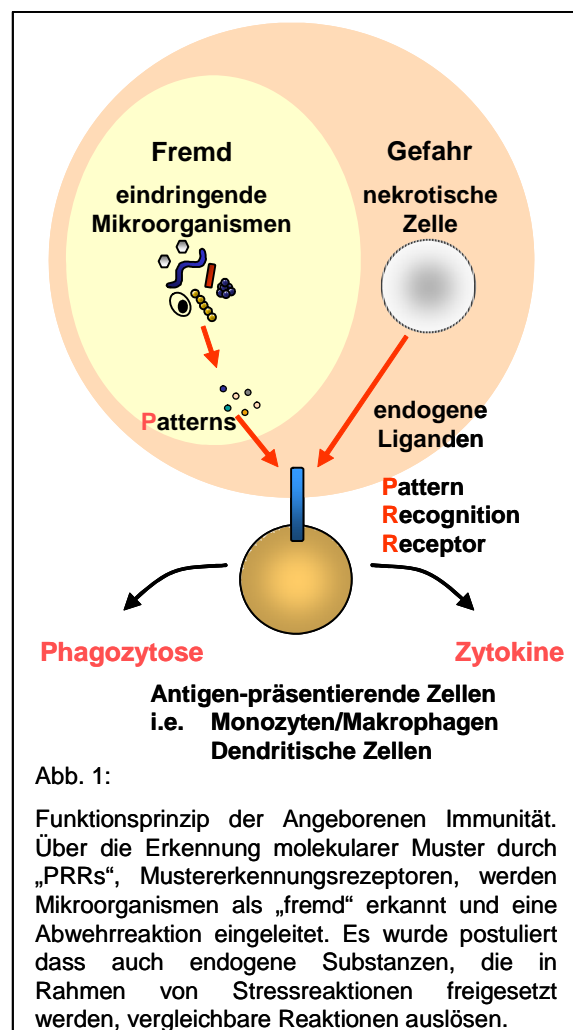
ACA	Acrodermatitis chronica atrophicans
Arg	Arginin
Asp	Asparagin
AP	Aggressive Parodontitis
CD14	<i>englisch</i> : cluster of differentiation marker 14
CP	Chronische Parodontitis
Gln	Glutamin
Gly	Glycin
GPI	Glykosylphosphatidylinositol
IFN	Interferon
IL	Interleukin
Ile	Isoleuzin
IRAK	<i>englisch</i> : IL-1 receptor associated kinase
Kdo	3-Desoxy-D-Manno-Octulosonsäure
LA	Lyme Arthritis
LBP	LPS Bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid
LRR	<i>englisch</i> : leucin rich repeats
LTA	Lipoteichonsäure
MD-2	<i>englisch</i> : myeloid differentiation factor 2
NF- κ B	<i>englisch</i> : nuclear factor κ B
MyD88	<i>englisch</i> : myeloid differentiation primary response gene 88
PRR	<i>englisch</i> : pattern recognition receptor
RSV	<i>englisch</i> : respiratory syncytial virus
SNP	<i>englisch</i> : single nucleotide polymorphism
TGF	<i>englisch</i> : transforming growth factor
Thr	Threonin
TIR-Domäne	Toll/IL-1 Rezeptor-Domäne
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumornekrose-Faktor
TRAF	<i>englisch</i> : TNF-receptor associated factor
TRIF	<i>englisch</i> : TIR-domain adapter inducing interferon β

1. Einleitung

1.1. Das Angeborene Immunsystem

Der Begriff "Angeborenes Immunsystem" (*englisch*: Innate Immunity) wurde in den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts von Charles Janeway geprägt. Er bezeichnet jenen Zweig des Immunsystems, der als ein erstes Abwehrsystem gegenüber in den Wirt eingedrungene Erreger agiert (Medzhitov and Janeway 1997). Auf zellulärer Ebene wird diese Barriere in erster Linie durch Antigen-präsentierende Zellen, also Makrophagen und Dendritische Zellen, aber auch durch andere Zelltypen wie Granulozyten oder "natural killer" (NK)-Zellen gebildet. Die Angeborene Immunantwort wird meist der Adaptiven Immunantwort gegenübergestellt, deren Träger in erster Linie T- und B-Lymphozyten sind. Das grundlegende Funktionsprinzip des Angeborenen Immunsystems basiert auf der Erkennung von unveränderlichen Merkmalen von Mikroorganismen, die diese eindeutig von Strukturen des Wirts abgrenzen.

Durch Erkennung dieser "Muster" (*englisch*: pattern) über spezielle Rezeptoren auf der Oberfläche von Zellen des Immunsystems, so genannter "Mustererkennungs-Rezeptoren" (*englisch*: pattern recognition receptors, PRRs, Abb. 1), werden die Mikroorganismen als "fremd" erkannt und die Abtötung durch Phagozytose eingeleitet. Zusätzlich wird aber auch die Freisetzung von Zytokinen bewirkt, die die Immunantwort verstärken können. Um eine effektive Immunantwort auszulösen, müssen mikrobielle Muster eine Reihe von Kriterien erfüllen: sie müssen 1) eindeutig von Strukturen des Wirts unterscheidbar sein. 2) für den Erreger lebenswichtige Funktionen erfüllen, d.h. nicht ohne massive Einschränkung der Vitalität ersetzbar sein.



Daraus erklärt sich, dass viele mikrobielle Muster auf der Zelloberfläche ausgebildete Kohlenhydrat- oder Glykolipid-Strukturen, wie z.B. Mannose-haltige Kohlenhydrate (Linehan et al. 2000) oder auch Lipopolysaccharide (Alexander and Rietschel 2001) sind.

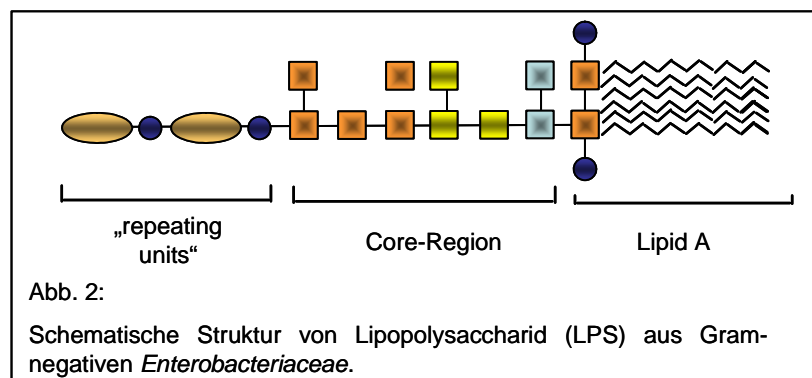
Es wurde zusätzlich postuliert, dass das Angeborene Immunsystem neben fremden Strukturen auch körpereigene Strukturen, die ausschließlich in Gefahrensituationen aktiv sezerniert oder als Folge von Gewebnekrosen passiv freigesetzt werden, erkennt. Diese Theorie wird auch als Gefahrenhypothese ("danger hypothesis", Abb. 1) bezeichnet (Matzinger 2002). In der Fachliteratur finden sich zahlreiche Berichte über körpereigene Strukturen, die Entzündungsreaktionen auslösen können, darunter Harnsäure (Shi et al. 2003) und das nuclear protein high-mobility group box 1 (HMGB1)-Protein (Tsong et al. 2007). Die "danger hypothesis" ist jedoch nicht unumstritten, und die hier vorgestellten Arbeiten beziehen sich ausschließlich auf die Interaktion des Angeborenen Immunsystems mit exogenen Liganden.

Wie oben erwähnt, führt die Interaktion von mikrobiellen Liganden mit PRRs zur Freisetzung von Zytokinen, die über die Phagozytose der Mikroorganismen hinaus die Immunantwort entscheidend modulieren können. Man unterscheidet hier zwischen pro-inflammatorischen Zytokinen, die die Immunantwort verstärken, wie Tumornekrose-Faktor (TNF) und Interleukin (IL)-12p70, und so genannten anti-inflammatorischen Zytokinen, wie Transforming Growth Factor (TGF)- β oder IL-10. Diese Zytokine beeinflussen entscheidend den Phänotyp Antigen-spezifischer T-Zellen. Dadurch erfüllt die Angeborene Immunität, über die wohlbekannte Rolle als erste Barriere gegenüber Krankheitserregern hinaus, entscheidende Funktionen in Bezug auf die Adaptive Immunantwort (Pasare and Medzhitov 2003).

1.2. Lipopolysaccharid und Toll-like Rezeptoren

Lipopolysaccharide (LPS) Gram-negativer Bakterien sind Glykolipide, sie bestehen also aus einem Lipidanteil und einem Kohlenhydratanteil. Der Lipidanteil von LPS, der in der äußeren Membran der Bakterien verankert ist, wird als Lipid A bezeichnet und enthält meist sechs Fettsäuren, darunter auch so genannte β -Hydroxy-

Fettsäuren (Galanos et al. 1985; Alexander and Rietschel 2001). Der Kohlenhydratanteil besteht aus einer so genannten "core"-Region, die Heptose und 3-Desoxy-D-Manno-Octuloson-säure (Kdo) enthält, sowie sich wiederholender Einheiten von Kohlenhydratbausteinen (*englisch*: "repeating units", Abb. 2). LPS kann über die Aktivierung von Monozyten und nachfolgender Freisetzung von Zytokinen, insbesondere TNF, das klinische Bild eines septischen Schocks auslösen (Beutler and Rietschel 2003). Der biologisch aktive Teil, also der Bereich, der über Interaktion von PRRs die zelluläre Aktivierung und nachfolgende Zytokin-Freisetzung bewirkt, ist dabei das Lipid A (Galanos et al. 1985; Raetz and Whitfield 2002). Einige an der durch LPS verursachten Zytokininduktion beteiligten PRRs konnten bereits in den frühen 90er Jahren des letzten Jahrhunderts charakterisiert werden: LPS wird durch das LPS Bindende Protein (LBP), ein Serumprotein, das in der Leber gebildet wird, über das Lipid A gebunden und an CD14, einen membranständigen Rezeptor auf Monozyten, Makrophagen und Dendritischen Zellen, übertragen (Schumann et al. 1990; Wright et al. 1990). Da CD14 über einen Glykosylphosphatidylinositol (GPI)-Anker in der Zellmembran verankert ist und keine transmembranäre Domäne besitzt, war schon von Beginn an offensichtlich, dass der LPS-Rezeptor-Komplex eine weitere, damals unbekannte Komponente beinhalten muss, die das Signal ins Zellinnere leitet. Besonderes Interesse galt in diesem Zusammenhang einem Mausstamm, der nach einer spontanen Mutation hyporesponsiv gegenüber LPS geworden war, dem C3H/HeJ-Stamm (Heppner and Weiss 1965). Diese Mutation betraf ein einzelnes Gen, das die Bezeichnung *Lps* erhielt (Watson and Riblet 1974; Watson and Riblet 1975) und nach dessen Genprodukt in der Folgezeit intensiv gesucht wurde.



Parallel ergaben sich Hinweise auf die Identität des LPS-Rezeptors aus einem vergleichsweise weit entfernten Forschungsgebiet, dem der Embryonalentwicklung. Am Labor von Christiane Nüsslein-Vollhardt wurde 1985 ein Protein identifiziert, das den Namen "Toll" erhielt und maßgeblich an der Embryonalentwicklung in *Drosophila* beteiligt ist (Anderson et al. 1985). Interessanterweise zeigte der Signaltransduktionsweg von Toll auffällige Ähnlichkeiten von dem des IL-1 in Säugetieren, was Un-

tersuchungen zur Rolle von Toll in der Infektabwehr von *Drosophila* veranlasste. Tatsächlich wurde festgestellt, dass Toll-defiziente *Drosophila* eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber einer Infektion mit *Aspergillus* aufweisen (Lemaitre et al. 1996). Dies veranlasste wiederum eine intensive Suche nach Homologen von Toll, Toll-like Rezeptoren (TLRs), in Säugetieren und führte zur Identifizierung der Gene zunächst für TLR1 (Taguchi et al. 1996) und nachfolgend für eine Reihe fünf weiterer putativer Rezeptoren, die als Toll-like Rezeptoren 1-5 bezeichnet wurden (Rock et al. 1998). Mittlerweile konnten elf TLRs in Menschen und dreizehn TLRs in Mäusen identifiziert werden (Kawai and Akira 2007). Alle bisher identifizierten TLRs besitzen dabei einen vergleichbaren Aufbau, der unter anderem eine Liganden-Bindungsstelle in Form so genannter "leucin rich repeats" (LRRs) sowie eine Signaltransduktions-Domäne, die so genannte Toll/IL-1-Rezeptor (TIR)-Domäne, umfasst (O'Neill 2002; Kawai and Akira 2007).

Zeitgleich mit der Entdeckung von TLRs konnte das Genprodukt von *Lps* als TLR4 identifiziert werden (Poltorak et al. 1998). Der Defekt in C3H/HeJ-Mäusen wurde als Folge eines Austauschs von Prolin durch Histidin innerhalb der intrazellulären Domäne von TLR4, der man eine wichtige Rolle in der Signaltransduktion zuwies, identifiziert (Poltorak et al. 1998). Die Rolle von murinem TLR4 in der Erkennung von LPS konnte durch die gezielte Deletion dieses Rezeptors durch die Generation einer TLR4 knock-out Maus am Labor von Shizuo Akira bestätigt werden (Hoshino et al. 1999). Schließlich konnte auch der humane TLR4 als Rezeptor für LPS identifiziert werden. Zu diesem Zweck wurde das zuvor identifizierte TLR4 kloniert, in der humanen embryonalen Nierenepithel-Zelllinie HEK-293 exprimiert und die Zellen mit LPS stimuliert (Chow et al. 1999). Kurz darauf folgte die Identifizierung von myeloid differentiation factor (MD)-2, eines extrazellulären Adaptermoleküls für TLR4 (Shimazu et al. 1999). Damit war der Aufbau des Rezeptor-Komplexes für LPS, bestehend aus TLR4, CD14 und MD-2, aufgeklärt (Abb. 3).

1.3. TLR2 und seine Liganden

Ursprünglich wurde 1998, von zwei Labors gleichzeitig, der humane TLR2 als Rezeptor für LPS beschrieben (Kirschning et al. 1998; Yang et al. 1998). Beide Untersucher hatten TLR2 in der embryonalen Nierenepithel-Zelllinie HEK-293 exprimiert und die

Zellen mit LPS stimuliert. In der von Kirschning et al. publizierten Studie wurden zusätzlich TLR1 und TLR4 getestet, wobei TLR4 durch eine hohe Spontan-Aktivierung der Zellen auffiel, die durch LPS jedoch nicht erhöht werden konnte (Kirschning et al. 1998). Kurze Zeit später wurde von einer dieser Arbeitsgruppen, unter Verwendung des gleichen auf HEK-293 Zellen beruhenden Testsystems, der humane TLR2 als Rezeptor für Zellwandkomponenten Gram-positiver Bakterien, nämlich Peptidoglykan und Lipoteichonsäure (LTA), identifiziert (Schwandner et al. 1999). Gleichzeitig erfolgte unter Verwendung des gleichen Testsystems die Identifikation von Lipoproteinen aus *Borrelia burgdorferi* und Lipoarabinomannan aus *Mycobacterium tuberculosis* als TLR2-Liganden (Lien et al. 1999). Die Diskrepanz zwischen diesen Ergebnissen und der ursprünglichen Beschreibung von TLR2 als LPS Rezeptor wurde von Seiten der Autoren niemals erläutert, ist aber möglicherweise durch Kontamination der ursprünglich verwendeten LPS-Präparation mit TLR2-Liganden verursacht (Hirschfeld et al. 2000). Ähnliche Befunde bezüglich der Liganden des TLR2 wurden mit der TLR2-defizienten Maus erhoben, die abermals am Labor von Shizuo Akira generiert wurde und ebenfalls eine verminderte Reaktion auf Peptidoglykan zeigte. In dieser Studie agierten die verwendeten kommerziell erhältlichen LTA-Präparationen allerdings auch mit TLR4 (Takeuchi et al. 1999).

Später wurden Studien veröffentlicht, die zeigten dass TLR2 neben Peptidoglykan auch eine weitere Klasse bakterieller Liganden, die Lipoproteine bzw. Lipopeptide, erkennen kann (Takeuchi et al. 2000; Nishiguchi et al. 2001; Takeuchi et al. 2001; Takeuchi et al. 2002). Dabei wurde ein weiteres Charakteristikum von TLR2 aufgedeckt: Während TLR4 Homodimere ausbildet, kann TLR2 Heterodimere entweder mit TLR1 oder TLR6 bilden (Ozinsky et al. 2000; Takeuchi et al. 2001; Takeuchi et al. 2002). Lipoproteine, die drei Fettsäuren enthalten und in Spirochäten, insbesondere *Borrelia burgdorferi*, als Komponenten der äußeren Membran vorkommen, interagieren mit TLR2/TLR1-Heterodimeren (Sellati et al. 1998; Takeuchi et al. 2002). Im Gegensatz dazu benötigen Lipopeptide, die zwei Fettsäuren enthalten und u.a. in *Mycoplasma* spp. zu finden sind, wie auch LTA die Anwesenheit von TLR2/TLR6 Heterodimeren (Garcia et al. 1998; Takeuchi et al. 2001). Diese Daten wurden unter der Verwendung von TLR1- bzw. TLR6-knock-out Mäusen erhoben. Im Gegensatz dazu wurde durch Expression von TLR2 und TLR6 in humanen HEK-293 Zellen eine Steigerung der Aktivierbarkeit durch Lipoproteine gefunden (Bulut et al. 2001). Zusätzlich

