

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Mausstämme

#### 2.1.1 C57BL/6OlaHsd

##### Ursprung

Dr. C.C. Little paarte 1921 die Geschwistertiere Weibchen 57 und Männchen 52 des Stammes/Bestandes von Miss Abby Lathrop, so dass die Stämme C57BL (BL für black), C57L (L für light) und C57BR (BR für brown) entstanden. Die Paarung des gleichen Männchens mit Weibchen 58 ergab den Stamm C58. Die wichtigsten Unterstämme seit 1935 sind C57BL/A, C57BL/An, C57BL/GrFa., C57BL/KaLwN, C57BL/6, C57BL/10, C57BL/10ScSn, C57BL/10Cr und C57BL/Ola. 1937 wurden die Unterstämme C57BL/6 und C57BL/10 getrennt, die sich in den Loci *H9*, *Igh2* (Immunglobulin heavy chain) und *Lv* unterscheiden. C57BL/6JolaHsd gelangte 1974 vom Jackson Laboratory zum Laboratory Animals Centre, Carshalton, 1983 zu OLAC (heute Harlan im Vereinigten Königreich) und 1997 schließlich in die Niederlande in die Harlan-Niederlassung (HARLAN, 2004).

##### Charakteristika

Der C57BL/6-Stamm weist eine gute Zuchtleistung auf. Die schwarzen Tiere zeichnen sich aus durch Langlebigkeit, das geringe Auftreten von Tumoren und das Vorkommen einiger spontaner, kongenitaler Abnormalitäten. Das hämatopoetische System betreffend ist im Vergleich zu BALB/c und DBA/2 die Alterung der primitiven hämatopoetischen Stammzellen der C57BL/6-Mäuse verzögert. Außerdem liegt nur eine geringe Zahl an hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark vor. Der Stammzellpool der C57BL/6-Mäuse ist 10-fach niedriger als bei DBA/2, hauptsächlich verursacht durch Loci auf Chromosom 1 (MULLER-SIEBURG und RIBLET, 1996). RUSSEL et al. (1951) ermittelten bei C57BL/6 hohe, totale Leukozytenzahlen und niedrige Erythrozytenzahlen.

##### Genetik

C57BL/6 wurde als DNA-Quelle in internationaler Zusammenarbeit verwendet, um den ersten, hochqualitativen Entwurf der Sequenz des Mausgenoms zu erarbeiten (MOUSE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2002). Die schwarze Fellfarbe wird bei den C57BL-Mäusen durch die Gene a, B, C, D codiert. Für die Histokompatibilität sind die Genloci *H-1<sup>c</sup>*, *H-2<sup>b</sup>* und *H-3<sup>a</sup>* (MHC-Loci) verantwortlich. Als biochemische Marker sind folgende zu vermerken: *Apoa-1<sup>a</sup>*, *Car-2<sup>a</sup>*, *Es-1<sup>a</sup>*, *ES-2<sup>b</sup>*, *Es-3<sup>a</sup>*, *Gpd-1<sup>a</sup>*, *Gpi-1<sup>b</sup>*, *Hba<sup>a</sup>*, *Hbb<sup>s</sup>*, *Idh-1<sup>a</sup>*, *Ldr-1<sup>a</sup>*, *Mod-1<sup>b</sup>*, *Mup-1<sup>b</sup>*, *Pep-1<sup>a</sup>*, *Pgm-1<sup>a</sup>*, *Pgm-2<sup>a</sup>*, *Trf<sup>b</sup>* (HARLAN, 2004).

Innerhalb der Unterstämme von C57BL erscheinen die Stämme A, GrFa, 6 und 10 relativ einheitlich. Unterschiede durch Mutationen und eine geringe, residuale Heterozygotie sind hier konsistent (HARLAN, 2004). Lediglich C57BL/6 und C57BL/10 unterscheiden sich in multiplen Loci des Chromosoms 4 (*H-9*, *Igh-2* und *Lv*) einschließlich einiger Mikrosatellitenmarker (SLINGSBY et al., 1996).

## Immunologie

Beispielhaft sollen einige immunologische Eigenschaften der C57BL/6-Mäuse genannt werden. Die Tiere weisen eine gute Immunantwort gegen Lipopolysaccharide von *Salmonella (S.) senftenberg* und *S. anatum* (DI PAULI, 1972) und eine hohe Phytohämagglutinin A (PHA)-stimulierte Lymphozyten-blastogenetische Antwort (HELLMANN und FOWLER, 1972) auf. Des Weiteren treten häufig sporadisch natürliche Hämagglutinine gegen Schaferythrozyten auf (BROOKE, 1965).

## Infektionsbiologie

Der Inzuchtstamm C57BL/6 wie auch die anderen in dieser Studie verwendeten Mausstämmen werden gehäuft als Modelle für eine Reihe verschiedener Erreger eingesetzt. Vergleichend ist eine Zusammenfassung der wichtigsten untersuchten Erreger und die Empfindlichkeit der Mäuse auf diese Erreger in den Tabellen 30 bis 32 im Anhang dargestellt. In Tabelle 1 und Tabelle 2 sind weitere untersuchte Erreger mit der jeweiligen Empfindlichkeit der C57BL/6-Mäuse genannt.

<u>Erreger</u>	<u>Bemerkung</u>	<u>Literaturquelle</u>
<i>Listeria monocytogenes</i>	100-fach resistenter als der Stamm A/J infolge hoher IFN- $\gamma$ - und granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GMC-SF) -Spiegel	SADARANGANI et al., 1980
<i>Coxsackie-Virus B1</i>	Entwickelt keine chronische Erkrankung und Entzündung, im Gegensatz zu C57BL/10 und kongenen B10 Stämmen	TAM u. MESSNER, 1996

Tabelle 1: C57BL/6-Resistenz gegenüber diversen Erregern

<u>Erreger</u>	<u>Bemerkung</u>	<u>Literaturquelle</u>
<i>Mycobacterium avium</i> <i>101 und 2-151</i>	Verwendung zur Testung antimykobakterieller Agenzien	FURNEY et al., 1995
<i>Leishmania major</i> <i>mexicana</i>	Suszeptibel, jedoch erfolgreiche Vakzination mit Liposomen mit Parasiten-Membranantigenen möglich, CBA/Ca ähnlich, im Gegensatz zu C57BL/10	LAZAMA-DAVILA, 1997
<i>Toxoplasma gondii</i>	Entwickelt langsam fortschreitende Parasitose	MACARIO et al., 1981

Tabelle 2: C57BL/6-Empfänglichkeit gegenüber diversen Erregern

## Forschungsanwendung

C57BL/6 stellt den wohl am meisten verwendeten Inzucht-Mausstamm dar, der für eine große Bandbreite an Forschungsthemen sowie als genetischer Hintergrund für die Erzeugung von kongenen Tieren mit spontanen und induzierten Mutationen eingesetzt wird.

Die C57BL/6-Mäuse werden u.a. in folgenden Forschungsgebieten eingesetzt: kardio-vaskuläre Biologie (Diät-induzierte Atherosklerose), Hämatologie (hämatopoetische Defekte), Entwicklungsbiologie (Augenfehlbildungen, Defekte des lymphatischen Gewebes, Skelettfehlbildungen), Diabetes und Fettleibigkeit (Hyperglykämie, Hyperinsulinämie, Insulinresistenz, Fettleibigkeit bei Diabetes, Typ-II Diabetes), Alkoholpräferenz, Bestrahlung, Karzinogenese, Neurobiologie und sensorineurale Forschung (Verhaltens- und Lernstörungen, vestibuläre Defekte und Hörschäden, Augendefekte), Genetik, Immunologie (Defekte des lymphatischen Gewebes durch hämatopoetische Entwicklungsstörungen) und Infektionen (FESTING, 1999; HARLAN, 2004).

### **2.1.2 BALB/cOlaHsd**

#### Ursprung

Bei den BALB/c-Mäusen handelt es sich um Albinos, die durch H. Bagg 1913 erworben wurden. MacDowell führte 1923 eine Inzucht der Tiere durch (Cold Spring Harbor, NY, USA), und 1932 gelangte die F26-Generation zu Snell, der das /c für „Albino“ hinzufügte. Drei Substämme (BALB/cHeAn, BALB/cJ, BALB/cRI) sind seit 1940 bekannt, die sich durch Mutation oder residuale Heterozygotie stark auseinander entwickelt haben. Genetische Kontamination tritt dabei eher in den Hintergrund. BALB/cWt stellt den vierten Substamm dar. Er weist ein gehäuftes Vorkommen des Hermaphroditismus auf (EICHER et al., 1980).

Die BALB/cOlaHsd-Tiere gelangten 1955 vom Jackson Laboratory in Bar Harbor zum Laboratory Animals Centre, Carshalton. Seit 1976 wurden sie im Clinical Research Centre, Harrow und dann im OLAC (heute Harlan im Vereinigten Königreich) weitergezüchtet. Seit 1997 wird mit diesem Stamm Inzucht in der niederländischen Harlan-Niederlassung betrieben. Verwandte Linien, die von Harlan-Winkelmann vertrieben werden, stellen BALB/cAnNHsd und BALB/cByJHanHsd dar (HARLAN, 2004).

#### Charakteristika

Der Stamm BALB/c weist eine gute Zuchtleistung mit einer langen Reproduktionsdauer auf. Er ist bekannt für seine Entwicklung von Plasmozytomen nach Injektion von Mineralöl und der anschließenden Bildung monoklonaler Antikörper. Mammatumoren treten selten auf. Die Inzidenz kann sich aber durch gemeinsame Haltung mit C3H-Tieren und der damit verbundenen Infektion mit Mammatumoviren stark erhöhen. 21% der BALB/c besitzen relativ große akzessorische Milzen (HUMMEL et al., 1966; ALBERT et al., 1966).

## Genetik

Die weiße Fellfarbe der Albinos wird über die Gene A, b, c, D codiert. Für die Histokompatibilität sind die Loci  $H-2^d$  und  $Thy-1^b$  verantwortlich. Zu den charakteristischen biochemischen Markern gehören  $Apoa-1^b$ ,  $Car-2^b$ ,  $Es-1^b$ ,  $Es-2^b$ ,  $Es-3^a$ ,  $Gpd-1^b$ ,  $Gpi-1^a$ ,  $Hba^b$ ,  $Hbb^d$ ,  $Idh-1^a$ ,  $Ldr-1^a$ ,  $Mod-1^a$ ,  $Mup-1^a$ ,  $Pep-3^a$ ,  $Pmg-2^a$  und  $Trf^b$  (HARLAN, 2004).

Unterschiede zwischen den drei Substämmen BALB/cHeAn, BALB/cJ und BALB/cRI bestehen durch Mutationen im *Raf1*-Locus (kontrolliert die Expression des  $\alpha$ -Fetoproteins), im *Qa2*-Lokus, der die Zelloberflächen-Antigene überwacht, und im *Gdc1*-Lokus. Dieser reguliert die L-Glycerol 3-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität. Weiterhin treten Mutationen auf in der PR1-repetitiven Sequenz (HILGERS et al., 1985). Zwischen den Unterstämmen BALB/cJ und BALB/cByJ, die 1935 voneinander getrennt wurden, bestehen kaum Unterschiede. Das BALB/cBy-Genom besitzt kein *Qa-2*-Gen (HARLAN, 2004).

## Immunologie

BALB/cOlaHsd weist eine gute Immunreaktion gegen Typ-3 Pneumokokkenpolysaccharide auf (BRALEY und FREEMAN, 1971) und ist resistent gegenüber der experimentellen allergischen Enzephalomyelitis (LEVINE und SOVINSKI, 1973). Die Tiere weisen eine geringe Immunantwort gegenüber Lipopolysacchariden von *Salmonella senftenberg* und *S. anatum* bzw. *S. strasbourg* (DI PAULI, 1972) und gegenüber *S. typhi*-Porinen (GONZALES et al., 1995) und eine hohe Phytohämagglutinin A (PHA)-stimulierte Lymphozyten-blastogenetische Antwort (HELLMANN und FOWLER, 1972) auf. Im Vergleich von vier Mausstämmen rekrutieren BALB/c am zweitmeisten peritoneale Leukozyten nach Induktion durch Thioglykolat-Medium (C57BL/6 > BALB/c > CD1 > 129X1/SvJ, WHITE et al., 2002). Außerdem ist die Leukozytenantwort auf Thioglykolat-Medium und abgetötete Bakterien niedrig im Vergleich zu C57BL/10 (FESTING, 1999).

## Infektionsbiologie

Eine Zusammenfassung der Empfindlichkeit von BALB/c gegenüber einzelnen Erregern wird in den Tabellen 3 und 4 geliefert. Weitergehende, mit anderen Inzuchtstämmen vergleichende Angaben sind in den Tabellen 30 bis 32 im Anhang und im Kapitel 2.4 (Seite 53) zu finden.

<u>Erreger</u>	<u>Bemerkung</u>	<u>Literaturquelle</u>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	im Gegensatz zu DBA/2, schnellere entzündliche Reaktion und Clearance	MORISSETTE et al., 1995; MORISSETTE et al., 1996
<i>Street-Rabies-Virus (SRV)</i>	über intraperitoneale Infektion	PERRY u. LODMELL, 1991
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	nach 14 Tagen beseitigt	MAYBERRY et al., 1993
<i>Toxocara canis</i>	nicht tödlich, kein Gewichtsverlust, aber hohe Mengen an Larven im Gehirn	EPE et al., 1994

Tabelle 3: BALB/c-Resistenz gegenüber diversen Erregern

<u>Erreger</u>	<u>Bemerkung</u>	<u>Literaturquelle</u>
<i>Streptococcus mutans</i>	Induktion von dentalem Karies	KURIHARA et al., 1991
Freund-Virus		DIETZ u. RICH, 1972
<i>Cryptococcus neoformans</i>		IROKANULO et al., 1995
<i>Leishmania tropica</i>		HOWARD et al., 1980
<i>Neospora caninum</i>	nach subkutaner Inokkulation von Tachyzoiten	LINDSEY et al., 1995
<i>Candida krusei</i>	entwickelt mykotische Mastitis	GUHAD et al., 1995
<i>Myocoptes musculinus</i>	ulzerative Dermatitis	JUNGMANN et al., 1996

Tabelle 4: BALB/c-Empfänglichkeit gegenüber diversen Erregern

### Forschungsanwendung

Die BALB/c-Tiere sind weit verbreitet und gehören zu den zwei bis drei am häufigsten verwendeten Inzucht-Mausstämmen. Sie werden für allgemeine Zwecke in vielen verschiedenen Disziplinen eingesetzt (FESTING, 1999; HARLAN, 2004). Darunter fällt die Immunologie, die Tumorforschung (erhöhte Tumorinzidenz, Ausnahme: Mammatumoren; erst spätere Entstehung von Milchdrüsentumoren, BENTVELZEN et al., 1970), die Forschung über Plasmazytome und monoklonale Antikörper, Myeloma- und Hybridoma-Bildung und die Forschung über das Verhalten und im Speziellen die Aggression (Verhaltens- und Lernstörungen, starke Ängstlichkeit, TANG et al., 2002). Weitere Forschungsgebiete, in denen dieser Mausstamm verwendet wird, stellen die kardiovaskuläre Forschung (relativ resistent gegenüber Diät-induzierter Atherosklerose, PAIGEN et al., 1990), die Parasitologie (XIDIEH et al., 1994) sowie die Forschung über das Corpus Callosum (Agenesie, WAHLSTEN und SCHALOMON, 1994) und den Hippocampus (WIMER et al., 1969) dar.

### **2.1.3 129P<sub>2</sub>/OlaHsd**

#### Ursprung

Dunn kreuzte 1928 Tiere des Fellfarbenstammes englischer Liebhaber mit denen eines Chinchillastammes (Tyrc-ch) aus Castle. Die 129-Mäuse haben mit dem Stamm 101 den gleichen Ursprung. 1945 gelangten die Tiere zu Russel in das Jackson Laboratory, Bar Harbor, in dem eine Selektion der Tiere nach Albinos bzw. heller Chinchilla-Fellfarbe durchgeführt wurde. Im Jahre 1947 übernahm Hunt in Michigan State und 1948 wiederum das Jackson Laboratory den Mausstamm. 1978 wechselten die Tiere zu G.D. Searle in High Wycomb bis schließlich OLAC die 129P<sub>2</sub>/OlaHsd-Tiere ab 1979 weiterzüchtete (HARLAN, 2004).

## Charakteristika

Die in ihrer Fellfarbe je nach Unterstamm unterschiedlichen 129-Mäuse besitzen eine schlechte Zuchtleistung (FESTING, 1976a). Sie weisen eine hohe Inzidenz an spontanen, testikulären Teratomen auf, die innerhalb der Unterstämme jedoch sehr unterschiedlich häufig auftreten (STEVENS, 1973). Eine Resistenz gegenüber *Shistosoma japonicum*-Zerkarien ist assoziiert mit dem häufigen Vorkommen eines großen Shunts zwischen dem hepatischen Portalsystem und der Vena cava bei einem Großteil der 129/Ola-Mäuse (COULSON und WILSON, 1989).

## Genetik

Innerhalb der Unterstämme von 129 besteht eine erhebliche genetische Variation (SIMPSON et al., 1997). Die Nomenklatur der Unterstämme orientiert sich daher an den durch SIMPSON et al. (1997) identifizierten und definierten Mikrosatellitenmarkern. Unterschieden werden die Unterstämme 129P (entstanden aus dem originären Elternstamm), 129S (entwickelt aus einem kongenetischen Stamm, dessen *Steel*-Mutation herausgezüchtet wurde), 129T (gezüchtet aus einem Stamm, der natürlicherweise eine Teratoma-Mutation trägt) und 129X (ein genetisch kontaminierter Stamm, HARLAN, 2004).

Die meist chinchillafarbenen 129P<sub>2</sub>/OlaHsd-Mäuse (codiert durch das Fellfarben-Gen  $c^{ch}$ ) besitzen zur weiteren Codierung der Fellfarbe die Gene  $A^W$  (codiert bei Tieren Agouti-Fellfarbe und weißen Bauch),  $B$  und  $D$ . Das bei 129P<sub>2</sub>/OlaHsd auftretende Keratokonjunktivitis Dilutionsgen  $p$  auf Chromosom sieben stammt von asiatischen Mäusen vom *Mus musculus* Typ (BRILLIANT et al., 1994). Folgende Histokompatibilitätsgene liegen bei diesem Inzuchtstamm vor:  $H-1^b$ ,  $H-2^b$  und  $H-3^b$ .

## Infektionsbiologie

BOHN et al. (1988a) wiesen nach, dass 129P<sub>2</sub>/OlaHsd-Mäuse intermediär sensitiv gegenüber einer Infektion mit *Y. enterocolitica* sind, während C57BL/6 resistent und BALB/c empfänglich ist. Weitere Ausführungen zu den Infektionen mit Yersinien sind in Kapitel 2.4 (ab Seite 53) zu finden. Der Mausstamm 129P<sub>2</sub>/OlaHsd findet in anderen Infektionsversuchen keine große Anwendung.

## Forschungsanwendung

Eingesetzt werden die 129-Mäuse hauptsächlich für die Forschung anhand gezielter Mutationen, da mehrere Reihen an embryonalen Stammzellen verfügbar sind. Weiterhin werden sie in der Tumorforschung (z.B. testikuläre Teratome), der Verhaltensforschung, der Stoffwechselforschung und der Forschung zum Corpus Callosum (Fehlen bei 70% der 129/J, LIVY und WAHLSTEN, 1997) eingesetzt.

## 2.1.4 C3H/HeNHsd

### Ursprung

Der C3H-Mausstamm wurde 1920 von L.C. Strong durch eine Kreuzung eines Bagg Albino-Weibchens (BALB) mit einem DBA-Männchen entwickelt. Die Tiere wurden daraufhin auf eine hohe Mammatumor-Inzidenz selektiert, welche aus der Übertragung des exogenen Maus-Mammatumor-Virus (MMTV) über die Milch an die Nachkommen resultierte. Durch die gleiche Kreuzung entstand der Stamm CBA, der eine niedrige Mammatumor-Inzidenz aufweist. 1930 gelangten die C3H-Mäuse zu Andervont (National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) und 1941 zu Heston und Law am gleichen Institut (C3H/He). Bei diesem Unterstamm handelt es sich um den am weitesten verbreiteten Unterstamm der C3H-Mäuse.

C3H/HeNHsd entstand aus einer Kernkolonie der National Institutes of Health in Bethesda, Maryland. 1997 wechselte die Inzucht dieses Stammes von Harlan Sprague Dawley, Inc. zu Harlan Nederland in Horst.

Als weitere Unterstämme von C3H sind zu nennen C3H/Bi, C3H/ Fg, C3H/HeJ, C3HeB/De, C3HeB/FeJLe-a/a und C3H/He-mg, die sich z.T. stark voneinander unterscheiden (MCLAREN und TAIT, 1969).

### Charakteristika

Die C3H-Tiere tragen die Agouti-Fellfarbe, d.h. die Farbe der Wildtiere. Die meisten Unterstämme besitzen eine gute Zuchtleistung. Charakteristisch sind das Erblinden nach sechs Wochen (s.o.) und das Vorkommen des MMTV bei Tieren, die nicht aus einer Ammenaufzucht oder dem Embryotransfer stammen (s.o.). Aber auch ohne dieses Virus bilden einige Tiere im Verlaufe des späteren Lebens Mammatumoren aus. C3H-Mäuse besitzen eine hohe totale Leukozytenzahl, eine niedrige Erythrozytenzahl, einen niedrigen Hämatokrit- und einen niedrigen Hämoglobinwert (RUSSEL et al., 1951). Weiterhin konnten Hummel et al. (1966) im Vergleich viele PP nachweisen

### Genetik

Die Agouti-Fellfarbe ergibt sich aus den Genen *A*, *B*, *C*, *D*. Für die Histokompatibilität sind bei C3H/HeNHsd die Gene *H-2<sup>k</sup>* und *Thy-1<sup>b</sup>* charakteristisch. Biochemische Marker sind folgende: *Apoa-1<sup>b</sup>*, *Car-2<sup>b</sup>*, *Es-1<sup>b</sup>*, *Es-2<sup>b</sup>*, *Es-3<sup>c</sup>*, *Gpd-1<sup>b</sup>*, *Gpi-1<sup>b</sup>*, *Hba<sup>c</sup>*, *Hbb<sup>d</sup>*, *Idh-1<sup>a</sup>*, *Ldr-1<sup>a</sup>*, *Mod-1<sup>a</sup>*, *Mup-1<sup>a</sup>*, *Pep-3<sup>b</sup>*, *Pmg-2<sup>b</sup>* und *Trf<sup>b</sup>* (HARLAN, 2004).

Innerhalb des C3H/HeJ-Stammes treten spontane Mutationen des Locus auf, der für die Antwort auf Lipopolysaccharide zuständig ist (toll-like receptor 4 Gen, *Tlr4<sup>Lps-d</sup>*). Diese Mäuse sind resistent gegenüber Endotoxin und hoch suszeptibel gegenüber Infektionen mit gramnegativen Bakterien wie z.B. Salmonellen. Hier treten eine verspätete Cytokinproduktion, eine gestörte NO-Bildung und eine abgeschwächte zelluläre Immunantwort auf (VAZQUEZ-TORRES et al., 2004).

### Immunologie

AMSBAUGH et al. (1972) zeigten, dass C3H-Mäuse eine gute Immunantwort der Milz gegen Pneumokokkenpolysaccharide aufweisen. Auch die Immunantwort gegen Lipopolysaccharide (LPS) von *Salmonella anatum*, *S. senftenberg* und *S. strasbourg* ist gut (DI PAULI, 1972).

## Infektionsbiologie

Zuletzt werden die Empfindlichkeiten speziell für C3H-Mäuse genannt. Die Tiere bilden nach GONZALES et al. (1995) eine starke Immunantwort auf Porine von *Salmonella typhi*. Außerdem sind sieben Unterstämme von C3H (wie auch 24 andere Mausstämmen) resistent gegenüber *Rickettsia akari* Stamm Kaplan. Eine Ausnahme bildet nur C3H/HeJ (ANDERSON und OSTERMAN, 1980). Wie oben bereits erwähnt, tragen die C3H-Mäuse das MMTV, das zur Mammatumorbildung führt (MURRAY und LITTLE, 1967). LEE und EICHER erkannten in C3H/HeJ-Tieren die dafür verantwortlichen, proviralen Loci (LEE und EICHER, 1990). Weitere Angaben zur Erregerantwort der C3H werden in den Tabellen 30 bis 32 im Anhang gemacht.

## Forschungsanwendung

Mäuse des Stammes C3H gehören zu den am meisten verwendeten Inzucht-Mäusen aller Mausstämmen. Je nach Aufzucht (Ammenaufzucht/Embryotransfer oder natürliche Aufzucht) finden sie Verwendung in der Forschung. Zu nennen ist die Tumorforschung (Mammatumoren) an natürlich aufgezogenen C3H-Tieren. Tiere aus der Ammenhaltung oder dem Embryotransfer werden auf den Gebieten der Immunologie und Entzündung, der Infektionskrankheiten, dem Stoffwechsel, der sensorineuralen Forschung, der Parasitologie und der kardiovaskulären Biologie eingesetzt. Im Bereich des Verhaltens und der Aggression sind die Anwendungsmöglichkeiten mit C3H-Mäusen begrenzt, da die Tiere mit sechs Wochen aufgrund des *rd*-Genes (*Pde6b<sup>rd1</sup>*), das zur retinalen Degeneration führt, erblinden (HARLAN, 2004; FESTING, 1999).

## **2.1.5 Unterschiede zwischen Mausstämmen**

### Immunologie

Die Mausstämmen weisen eine unterschiedlich schnelle und effektive Zellrekrutierung und Immunantwort im Verlaufe von Infektionen auf. Sie bilden beispielsweise nicht die gleiche Menge an proinflammatorischen Cytokinen oder deren Effektivität ist unterschiedlich. Zu nennen sind IFN- $\gamma$  (BOHN et al., 1994; BOHN et al., 1998a; AUTENRIETH et al., 1994; BOHN u. AUTENRIETH, 1996), TNF- $\alpha$  (BOHN et al., 1994), IL-10 (BOHN u. AUTENRIETH, 1996; BOHN et al., 1994), IL-12 (BOHN u. AUTENRIETH, 1996; BOHN et al., 1998a; BOHN et al., 1998b), IL-18 (BOHN et al., 1998b), TGF- $\beta$  (BOHN et al., 1998a), u.v.m. Auf diese Weise wirkt die T<sub>H</sub>1- bzw. T<sub>H</sub>2-Immunantwort unterschiedlich effektiv. Die Aktivierung der T-Lymphozyten und damit auch der Makrophagen und der B-Zellen wird in den Mausstämmen unterschiedlich schnell und effektiv erreicht, so dass letztlich die Elimination eines Erregers stammspezifisch mehr oder weniger erfolgreich verläuft. Auf die immunologischen Reaktionen der in dieser Studie untersuchten Inzuchtstämmen auf *Y. enterocolitica* wird in Kapitel 2.4 (Seite 53) näher eingegangen.

### Infektionsbiologie

Diverse Untersuchungen von *Y. enterocolitica*-Infektionen an unterschiedlichen Inzucht-Mausstämmen und Mausmutanten fanden durch verschiedene Arbeitsgruppen statt. Dabei wurde jedoch die Pathologie bislang nicht in diesem Umfang vergleichend berücksichtigt.



Eine eingehende Beschreibung dieser Infektionsversuche und Mausmodelle findet in Kapitel 2.4 (Seite 53) statt. Eine vergleichende Übersicht über die Empfänglichkeit verschiedener Mausstämmen gegenüber weiteren Infektionserregern zeigen die Tabellen 30 bis 32 im Anhang.

### Reproduktion

Von den vier untersuchten Inzuchtstämmen zeigt 129P<sub>2</sub> die schlechteste Zuchtleistung. Die mittlere Nachkommenzahl zur Zeit des Säugens beträgt hier nur 4,5 (FESTING, 1976a). Den anderen drei Stämmen kann eine gute Zuchtleistung zugesprochen werden. C57BL/6 hat im Durchschnitt 6,2 Nachkommen zur Säugezeit (NAGASAWA et al., 1973; HANSEN et al., 1973). Der Östruszyklus ist außerdem länger und regelmäßiger als bei C3H/HeJ und DBA/2 (NELSON et al., 1992). BALB/c zeigt eine gute bis mittlere Zuchtleistung und eine lang anhaltende Reproduktionsphase. Die Weibchen bekommen im Mittel 5,2 Nachkommen (FESTING, 1976a). C3H weist ebenfalls eine gute Zuchtleistung auf. Die relativ hohe, mittlere Nachkommenanzahl schwankt je nach Studie von 5,9 bis 6,4 (FESTING, 1976a; NAGASAWA et al., 1973; HANSEN et al., 1973).

### Lebensdauer

Die C57BL/6 gelten als langlebig im Gegensatz zu den BALB/c. Die C3H- und die 129P<sub>2</sub>-Mäuse liegen in ihrer medianen Lebensdauer zwischen den anderen beiden Stämmen. Eine Übersicht der mittleren Lebensspanne als Ergebnis unterschiedlicher Studien gibt Tabelle 5.

Stamm	Weibchen	Männchen	Literaturquelle
C57BL/6 <sup>a</sup>	692 T (= 23,6 M)	676 T (= 22,4 M)	STORER et al., 1966
C57BL/6 <sup>e</sup>	708 T (= 23,6 M)	741 T (= 24,7 M)	LES et al., 1969
C57BL/6	818 T (=27,3 M)	827 T (= 27,6 M)	GOODRICK et al., 1975
C57BL/6 <sup>c</sup>	795 T (= 26,5 M)	878 T (= 29,3 M)	KUNSTYR u. LEUENBERGER, 1975
BALB/cJ <sup>a</sup>	575 T (= 19,2 M)	539 T (= 18,0 M)	STORER et al., 1966
BALB/cJ <sup>e</sup>	717 T (= 23,9 M)	642 T (= 21,4 M)	LES et al., 1969
BALB/cJ	609 T (= 20,3 M)	468 T (= 15,6 M)	GRAHN, 1972
BALB/cJ	648 T (= 21,6 M)	816 T (= 27,2 M)	GOODRICK, 1975
BALB/c	609 T (= 20,3 M)	396 T (= 13,2 M)	EBBESEN et al., 1971
BALB/cLac <sup>b</sup>	561 T (= 18,7 M)	509 T (=17,0 M)	FESTING u. BLACKMORE, 1971
129P3/J <sup>a</sup>	648 T (= 21,6 M)	679 T (= 22,9 M)	STORER, 1966
129/RrJLac <sup>b</sup>	666 T (= 22,3 M)	699 T (= 23,3 M)	FESTING u. BLACKMORE, 1971
129P3/J	729 T (= 24,3 M)	819 T (= 27,3 M)	SMITH et al., 1973
C3H <sup>a</sup>	657 T (= 21,9 M)	652 T (= 21,7 M)	STORER, 1966
C3HeB/FeJ <sup>b,d</sup>	676 T (= 22,5 M)	590 T (= 19,7 M)	FESTING u. BLACKMORE, 1976

Tabelle 5: Übersicht über die mittlere Lebensdauer der untersuchten Inzucht-Mausstämme

T = Tage, M = Monate, <sup>a</sup> = konventionelle Bedingungen, <sup>b</sup> = SPF-Bedingungen, <sup>c</sup> = definierte Bedingungen, <sup>d</sup> = Ammenaufzucht, <sup>e</sup> = bei pasteurisierter Diät

## 2.2 *Yersinia enterocolitica*

### 2.2.1 Historie

Die Gattung *Yersinia* ist nach Alexandre Jean Emil Yersin (1863-1943) benannt, der 1884 erstmals den Erreger der Pest, *Yersinia (Y.) pestis*, isolierte (BERCOVIER und MOLLARET, 1984). 1934 wurde der später als *Y. enterocolitica* bezeichnete Erreger zum ersten Mal in der Literatur durch MCIVER und PIKE erwähnt (MCIVER und PIKE, 1934). Beschrieben wurde ein kleiner, gramnegativer, kokkoider Erreger hier namens *Flavobacterium pseudomallei*, isoliert aus Fazialabszessen eines Landwirts (BOTTONNE, 1997). SCHLEIFSTEIN und COLEMAN isolierten 1939 aus einer granulomatös veränderten Hautläsion das *Bacterium enterocoliticum*, ein bewegliches, gramnegatives Stäbchen mit bipolarer Anfärbbarkeit. Im Anschluss wurden häufig *Pasteurella pseudotuberculosis*-ähnliche Isolate beschrieben, die bei Nagetieren und Menschen Pseudotuberkulose, Enteritis oder mesenteriale Lymphadenitis hervorriefen, woraufhin die Erregergruppe unter dem Namen *Pasteurella X* zusammengefasst wurde (HEESEMAN, 1994). 1944 schlug VAN LOGHEIM schließlich den Gattungsnamen *Yersinia* vor. 1964 fand eine Klassifizierung der Gattung *Yersinia* statt, als FREDERIKSEN den Namen *Yersinia enterocolitica* vorschlug (NAKTIN und BEAVIS, 1999).

### 2.2.2 Systematik

Die Gattung *Yersinia* gehört zu der Familie der Enterobacteriaceae (BERCOVIER und MOLLARET, 1984). *Y. enterocolitica* ist ein ubiquitär vorkommendes, gramnegatives, aerob und fakultativ anaerob wachsendes, pleomorphes, peritrich begeißeltes, kapsellooses Stäbchen, das eine Länge von 1-3 µm und eine Breite von 0,5-0,8 µm aufweist. Eine Geißelbildung findet bei Temperaturen unter +30°C statt, weshalb die Bakterien bei 37°C unbeweglich sind. Die nicht sporenbildenden Yersinien sind Zytochromoxidase negativ, Katalase positiv und reduzieren Nitrat zu Nitrit (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990). Sie können sich noch bei Temperaturen zwischen 0° und +45°C vermehren. Die optimale Temperatur für das Bakterienwachstum liegt jedoch bei ca. 30°C. Es werden keine besonderen Ansprüche an die Nährböden gestellt (HEESEMAN, 1994; DEDIE et al., 1993).

Der Gattung *Yersinia* werden derzeit elf verschiedene Spezies zugeordnet. Davon gelten die Spezies *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* als human- und tierpathogen. *Y. pestis* ist als Erreger der Nagerpest und der Pest des Menschen bekannt. *Y. pseudotuberculosis* spielt eine Rolle als Erreger der Pseudotuberkulose bei Mensch und Tier. Pseudotuberkulose-ähnliche Erkrankungen bei Tieren und eine enterale Infektion des Menschen werden durch *Y. enterocolitica* verursacht (siehe auch Kapitel 2.2.7, Seite 35). Während der Pesterreger in den vergangenen Jahrhunderten gefürchtet war, hat er heute an Bedeutung verloren. Dagegen spielen die enteropathogenen Yersinien (*Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*) seit Mitte dieses Jahrhunderts eine immer größer werdende Rolle (BOTTONNE, 1999). Eine weitere pathogene Spezies stellt *Y. ruckeri* dar. Sie führt bei Forellen und anderen Salmoniden zur so genannten Enteric Redmouth Disease (BISPING und AMTSBERG, 1988). Die acht weiterhin klassifizierten *Yersinia*-Spezies *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristenseni*, *Y. rohdei*, *Y. aldovae*, *Y. mollaretii* und *Y. bercovieri*, die früher

als *Y. enterocolitica*-like Bakterien bezeichnet wurden, sind apathogen. Sie werden aufgrund genetischer Differenzen voneinander unterschieden. Eine endgültige taxonomische Einordnung ist auch heute noch nicht abgeschlossen (NEUBAUER et al., 2000).

### 2.2.3 Biotyp

Eine weitere Unterscheidung der einzelnen Stämme innerhalb der Spezies *Y. enterocolitica* findet anhand der unterschiedlichen biochemischen Eigenschaften statt. Es können nach dem Biotypisierungsschema nach WAUTERS et al. (1987) sechs Biotypen unterschieden werden: 1A, 1B, 2, 3, 4 und 5. Biotyp 1 enthält sowohl pathogene als auch apathogene Varianten. Letztere werden dem Biotyp 1A zugeordnet. Es handelt sich hierbei hauptsächlich um Saprophyten, die teilweise opportunistische Erkrankungen hervorrufen können (BAUMGART, 1999). Der Biotyp 1B enthält humanpathogene Stämme und kommt vor allem in den USA vor. Die Biotypen 1A und 1B können anhand des Nachweises der Pyrazinamidase, des Salizins und des Aeskulins voneinander unterschieden werden, wobei das Ergebnis negativ für die pathogenen Stämme ausfällt. Die für den Menschen pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämme gehören in Europa zu den Biotypen 2, 3 und 4. Zu den Biotypen 3 und 5 werden die tierpathogenen Stämme gerechnet, die bei Hasen, Ziegen und Chinchillas septische Erkrankungen hervorrufen (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990).

### 2.2.4 Serotyp

Anhand verschiedener Antigene werden die *Yersinia* ssp. in unterschiedliche Serotypen eingeteilt. Von diagnostischer Bedeutung sind dabei die O-Antigene (Oberflächenantigene, mit Zahlen bezeichnet) und die H-Antigene (Geißelantigene, mit Buchstaben bezeichnet, SCHIEMANN, 1989). Bestimmte O-Antigene können bei verschiedenen Spezies vorkommen, während H-Antigene speziesspezifisch sind und daher zur direkten Identifizierung der *Yersinia*-Arten herangezogen werden können (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990; ALEKSIC, 1995). Es sind bis heute 60 O-Gruppen bekannt, wobei auf *Y. enterocolitica* 28 Serogruppen entfallen (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990). Zu den humanmedizinisch bedeutsamen Erregern der enteralen Yersiniosen zählen in Europa die Serogruppen O:3, O:9 und O:5,27 (ALEKSIC et al., 1988), während in den USA die Serogruppen O:4,32, O:8, O:13, O:18, O:20 und O:21 eine Rolle spielen (ALEKSIC, 1995). Bislang konnten bei *Y. enterocolitica* mindestens 18 H-Faktoren definiert werden, deren Kombination signifikant für pathogene Serotypen ist. Insgesamt können bei den Yersinien mindestens 214 Serotypen durch Kombination der H- und O-Antigene unterschieden werden (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990). Je nach Biotyp und Serovar werden den Erregern unterschiedliche Pathogenitätsmerkmale zugeordnet. Im Vergleich erscheint der Serotyp O:8 gegenüber den Serotypen O:3 und O:9 virulenter (N.N., 1999). Unterschiedliche Serotypen treten bei den einzelnen Tierarten auf. So ist der Serotyp O:1 bei Chinchillas, der Serotyp O:2 bei Hasen und Ziegen und der Serotyp O:3 bei Affen, Hunden und Katzen anzutreffen. Bei Schweinen sind fast alle bekannten Serotypen nachweisbar, verursachen jedoch nicht immer Krankheiten (SELBITZ, 1992). Bei Infektionen mit dem Serovar O:9 werden Antikörper gebildet, die in

der Brucellose-serologie aufgrund ihrer Kreuzreaktivität mit *Brucella abortus* zu falsch positiven Ergebnissen führen können (SELBITZ, 2002).

### **2.2.5 Pathogenitätsfaktoren**

Bei den Yersinien lassen sich eine Plasmid- und eine chromosomal kodierte Pathogenität unterscheiden (HEESEMANN, 1990).

#### Plasmid-kodierte Pathogenität

Über das ca. 70 Kilobasen große Virulenzplasmid (pYV, plasmid for *Yersinia* virulence) kodiert das Bakterium zahlreiche Proteine, deren Expression von der Temperatur und dem Calciumgehalt abhängig ist (STRALEY et al., 1993). Einerseits handelt es sich bei den Proteinen um sezernierte Polypeptide, die „*Yersinia* outer proteins“ (Yops), die u.a. Phagozytoseresistenz, Serumresistenz und Zytotoxizität vermitteln (DEDIE et al., 1993; HEESEMANN, 1990). Sie gelangen über das *Yersinia* type III secretion system (TTSS) in die Wirtszellen und greifen von dort in die Mechanismen der Wirtsimmunantwort ein, indem sie die Signalwege der Zielzellen, z.B. der Makrophagen und anderer Immunzellen, stören (CORNELIS, 2002). Auf diese Weise verhindern sie die Phagozytose, die Antigenerkennung, und letztendlich induzieren sie die Apoptose der Makrophagen (CORNELIS, 1998). Eine Übersicht über die bereits entdeckten Yops mit den ihnen zugeordneten Funktionen wird in Tabelle 6 gegeben.

<u>Yersinia outer protein</u>	<u>Funktion</u>	<u>Literaturquelle</u>
YopB	benötigt für Translokation, Kontakthämolyse; induziert Pore; Zytotoxizität; unterdrückt TNF- $\alpha$ -Ausschüttung	HAKANSSON et al., 1996; BEUSCHER et al., 1995
YopD	benötigt für Translokation von YopE, YopH, YopM, YopO/YpkA, YopP/YopJ	BOLAND et al., 1996
YopE	Phagozytoseresistenz, Zytotoxizität, Interaktion mit GTPasen $\rightarrow$ Wirkung auf Zytoskelett	ROSQVIST et al., 1990
YopH	De-/Phosphorylierung von Wirtszellproteinen $\rightarrow$ Eingriff in Wirtszell-Signaltransduktionsweg $\rightarrow$ Phagozytosehemmung bei PMNs und Makrophagen, Eingriff in Mitogenese, Zellteilung; Inhibierung des PI3P-Weges $\rightarrow$ Inhibierung der T-Zell-Aktivierung	RUCKDESCHEL et al., 1996; SAUVONNET et al., 2002
YopM	extrazellulärer Effektor, kommt auch intrazellulär vor, Thrombin-Bindungsaktivität, Hemmung der Thrombin-induzierten Plättchenaktivierung, reguliert Wirtsgene für Zellzyklus und -wachstum	LEUNG et al., 1990; SAUVONNET et al., 2002
YopO (YpkA in <i>Y. pseudotuberculosis</i> )	<i>Yersinia</i> protein kinase A, katalysiert Autophosphorylierung von Serin, führt zu morphologischen Schädigungen der Zellen	HAKANSSON et al., 1996
YopP (YopJ in <i>Y. pestis</i> )	induziert Apoptose in Makrophagen, zelltypabhängig, keine Apoptoseinduktion in Epithelzellen u. Fibroblasten $\rightarrow$ verhindert inflammatorische Antwort $\rightarrow$ extrazelluläre Proliferation $\uparrow$ ; Blockade des NF- $\kappa$ B-Weges $\rightarrow$ viele Gene für TNF- $\alpha$ -Signalweg betroffen $\rightarrow$ verhindert Beginn der inflammatorischen Antwort; Interaktion mit GTPasen $\rightarrow$ Wirkung auf Zytoskelett	RUCKDESCHEL et al., 1997; SAUVONNET et al., 2002
YopQ/ YopK	kontrolliert Translokation durch Größenmodulation der von YopB induzierten Pore	HOLMSTRÖM et al., 1995
YopT	Zytotoxizität für Makrophagen; Interaktion mit GTPasen $\rightarrow$ Wirkung auf Zytoskelett	IRIARTE u. CORNELIS, 1998; SAUVONNET et al., 2002
LcrG	benötigt für Translokation der Yops in Wirtszelle; bindet Heparansulfat	BOYD et al., 1998
Lcrv	Sekretion von YopB und YopD; induziert IL-10 $\uparrow$ $\rightarrow$ weniger Cytokine aus Makrophagen freigesetzt	SARKER et al., 1998; SAUVONNET et al., 2002

Tabelle 6: Übersicht über die verschiedenen von *Y. enterocolitica* gebildeten Yops und ihre Funktionen

PI3P-Weg = Phosphatidyl-Inositol-3-Phosphatase-Weg

Andererseits kodiert das Plasmid das membrangebundene, ca. 200 kDa große, fibrilläre „*Yersinia* adhesin A“ oder Yad A, ein Protein, das eine Bindung der Yersinien an den Bürstensaum der Darmzotten vermittelt (PAERREGAARD et al., 1991) und dessen Genaussschaltung zur Reduktion der Virulenz im Mausmodell, zum Verlust der Phagozytoseresistenz und zum Verlust der Überlebensfähigkeit im Serum führt (HEESEMANN, 1990).

Darüber hinaus besitzt Yad A weitere Eigenschaften, die für die Virulenz eine entscheidende Rolle spielen. Eine der wichtigsten Eigenschaften davon ist der Schutz vor Zerstörung durch die polymorphkernigen Leukozyten, dessen Mechanismus noch nicht bekannt ist. Man nimmt an, dass sich Yad A an die Eukaryontenzellen bindet, wodurch die Yops gebildet werden können und somit die Phagozytose verhindert wird (s.o., RUCKDESCHEL et al., 1996). Eine weitere Eigenschaft ist die Fähigkeit zur Autoagglutination, die auch in der Diagnostik genutzt wird (SKURNIK et al., 1984).

### Chromosomal kodierte Pathogenität

Die chromosomal kodierten Virulenzfaktoren spielen ebenfalls eine große Rolle in der Pathogenität der Yersinien. Das Invasin (Inv) gehört zu den chromosomal determinierten Faktoren. Es handelt sich dabei um ein 103 kDa großes Membranprotein, das von allen enteropathogenen Yersinien gebildet wird (ISBERG, 1989). Es scheint zu Beginn einer Infektion das Eindringen der Bakterien in die epithelialen Zellen des Ileums durch die Bindung an Integrine zu fördern, wodurch ein phagozytotischer Prozess eingeleitet wird (PEPE et al., 1995). Eine signifikante Transkription findet jedoch nur bei Temperaturen unter +30°C statt, so dass eine pathogenetische Bedeutung des Invasins angezweifelt wird. Das globale Virulenzregulator A (*rovA*)-Gen ist verantwortlich für die Regulation der Inv-Expression und weiterer bislang nicht identifizierter Genprodukte. Es ist eher in der Kolonisation der PP von Bedeutung als in einer Etablierung einer systemischen Infektion (DUBE et al., 2003).

Das Attachment-invasive-locus-Gen (*ail*) kodiert das Oberflächenprotein Ail mit der Funktion der Zelladhärenz und der Invasivität. Es kommt nur in pathogenen Yersinien vor und lässt eine wichtige Rolle in der Virulenz vermuten (HEESEMAN, 1990).

Einen weiteren chromosomal kodierten Virulenzfaktor stellen die für gramnegative Bakterien typischen Lipopolysaccharide (LPS) dar (HEESEMAN, 1990), die je nach Temperatur ihre Struktur ändern (BOTTONI, 1997). Sie spielen eine wichtige Rolle in der reaktiven Arthritis, da gegen ihre Struktur Antikörper gebildet werden (DI GENARO, 2000, siehe Kapitel 2.2.7, Seite 35).

Das hitzestabile Enterotoxin Yst wird ebenfalls chromosomal kodiert (HEESEMAN, 1990). Es wird jedoch nur bei Temperaturen unter +30°C exprimiert, so dass es im Darmlumen nicht gebildet wird (COVER und ABER., 1989), wohl aber durch präformierte Enterotoxine in Lebensmitteln zu Intoxikationen führen kann (KAPPERUD, 1982; KAPPERUD und LANGELAND, 1981). Es wurde bei pathogenen wie auch apathogenen Yersinien nachgewiesen (DEDIE et al., 1993; SCHIEMANN, 1989).

Das Enzym Urease, chromosomal kodiert durch den Urease-Genkomplex (*ure*, DE KONING-WARD et al., 1994; GRANT, 1998), befähigt die Yersinien, Harnstoff zu Ammoniak und Carbamat zu hydrolysieren. In einer weiteren Reaktion entstehen nochmals Ammoniak und Carbonsäure, wodurch der Magensaft alkalisiert und damit die Magenpassage erleichtert wird (DE KONING-WARD und ROBINS-BROWNE, 1995).

*Y. enterocolitica* benötigt für seine Vermehrung Eisenionen, die über ein spezifisches Eisenaufnahmesystem zugeführt werden, das innerhalb der High-Pathogenicity-Islands (HPI) kodiert wird. Stämme mit niedriger Pathogenität, die nicht mausletal sind und nur intestinale Infektionen mittleren Schweregrades beim Menschen verursachen, verfügen nicht über diese HPIs im Gegensatz zu den hoch pathogenen Stämmen, die mausletal sind (CARNIEL et al.,

1996). Letztere sezernieren Eisenkomplexe (Siderophore, Yersiniabactin), die mit hoher Affinität das von eukaryontischen Molekülen gebundene Eisen binden. Die eisenbeladenen Siderophore werden dann durch membranständige Rezeptoren (Fyu A) aufgenommen (DEDIE et al., 1993; HEESEMANN, 1990; HEESEMANN, 1987). Nachfolgend können die Yersinien im Wirt disseminieren und schwere systemische Infektionen verursachen. Angehörige der Serovare O:8 und O:21 besitzen sowohl Siderophore als auch Siderophorenrezeptoren, während Angehörige der Serovare O:3, O:9, O:5,27, O:1,2,3 und O:20 nur Rezeptoren aufweisen. Mutanten mit einem Defekt im Siderophoren-Aufnahmesystem sind weniger virulent als der Mutterstamm. Die Siderophor-Determinante zählt damit zu den wenigen, bisher bewiesenen chromosomalen Pathogenitätsfaktoren der Yersinien (HEESEMANN, 1990; siehe auch Kapitel 2.2.10, Seite 41).

## 2.2.6 Pathogenese, Epidemiologie und Ökologie

*Y. enterocolitica* ist in aquatischen und tierischen Reservoiren ein weit verbreiteter Keim. Das Schwein bildet für die humanpathogenen Stämme das Hauptreservoir. Humane Infektionen finden vor allem durch Aufnahme des Erregers durch kontaminierte Nahrung (BLACK et al., 1978) oder kontaminiertes Wasser (KEET, 1974) bzw. durch die direkte Inokulation bei Bluttransfusionen (STENHOUSE und MILNER, 1982) statt. Innerhalb des Gastrointestinaltraktes kann der Erreger dann zu einer akuten Enteritis, einer Enterokolitis, einer mesenterialen Lymphadenitis und einer aboralen Ileitis führen. Zur Etablierung der Infektion ist das Vorhandensein und Zusammenspiel der o.g. Virulenzfaktoren (vor allem Urease, Yad A, Inv, Ail, verschiedene Yops) von größter Bedeutung. Nach Passage des Magens und des vorderen und mittleren Dünndarms findet eine Kolonisation des aboralen Ileums und des oralen Kolons statt, die die hauptsächlichsten, primären Infektionsorte darstellen. Hier wird die auf dem Epithel liegende Mukusschicht überwunden und schließlich an den Bürstensaum des Epithels gebunden. Bevorzugte Eintrittspforte in das Wirtsgewebe ist das Epithel der PP, im Speziellen die M-Zellen (HANSKI et al., 1989a; GRÜTZKAU et al., 1993). Sie stellen spezialisierte, Follikel-assoziierte Epithelzellen der PP dar, die für die Antigenaufnahme zuständig sind (GRÜTZKAU et al., 1990). Es wird ein Transport der Yersinien über M-Zellen über Phagozytose vom Lumen in die Lamina propria angenommen. Absorptive Zellen des Follikel-assoziierten Epithels sind am Transport nicht beteiligt. Ein aktives Eindringen der Bakterien in die M-Zellen erscheint außerdem fraglich (GRÜTZKAU et al., 1990; GRÜTZKAU et al., 1993). Für die Aufnahme der Bakterien durch die M-Zellen ist die Expression von grün fluoreszierendes Protein (GFP) oder Invasin notwendig. Neben den Yersinien erreichen dies auch *Salmonella typhimurium* und *Escherichia coli* (JANG et al., 2004). HANSKI et al. (1989b) konnten darstellen, dass das Plasmid in den ersten Stunden der Infektion nicht für die Bindung und Invasion von Bedeutung ist. Ein Transport der Bakterien vom Darmlumen in die PP fand auch ohne Plasmid statt (GRÜTZKAU et al., 1993). Die Virulenz ist dagegen davon abhängig, inwieweit die Yersinien in der Lage sind zu überleben und sich im Gewebe zu vermehren. Plasmidlose Stämme wurden nach der Invasion der PP schnell eliminiert (HANSKI et al., 1989b). Dafür zuständig waren Granulozyten und Makrophagen. Makrophagen machen in den PP nur 0,1-0,2 % der kernhaltigen Zellen aus. Sie reichen aber aus, um apathogene Yersinien zu beseitigen. Das phagozytotische System spielt bei der Elimination der Yersinien eine entscheidende Rolle. Yersinien mit Plasmid, die das V-Antigen besitzen, sind in der Lage, über Yops die Phagozytose zu hemmen und die Granulombildung zu



inhibieren und damit der wirtseigenen Immunabwehr zu entkommen (YopH, YopB, etc.; siehe Kapitel 2.2.5, Seite 31, BLISKA et al., 1992; BEUSCHER et al., 1995). Komplement spielt dagegen in der Bekämpfung von *Y. enterocolitica* keine Rolle (HANSKI et al., 1991). Zunächst befinden sich die Yersinien nach der Infektion unter dem intakten Epithel der PP. Auch Salmonellen wurden nach Infektion der PP unter deren Epithel angetroffen (BUMANN, 2001). Im Darm-assoziierten lymphatischen Gewebe vermehren sich die Yersinien anschließend und bilden einerseits Mikroabszesse, die eine Vergrößerung der PP, eine Ulzeration des darüberliegenden Epithels und eine entzündliche Reaktion zur Folge haben. Luminal und retrograd werden auf diese Weise weitere Darmabschnitte durch *Yersinia* geschädigt. Andererseits breiten sich die Bakterien über die abfließenden Lymphgefäße in die mesenterialen Lymphknoten aus und verursachen hier große Abszesse in den Markregionen (HEESEMANN, 1994; CARTER, 1981). Auch Leber und Milz sind von der systemischen Streuung betroffen. Für das Ausmaß des extrazellulären Wachstums und der systemischen Streuung spielt das Virulenzplasmid der Yersinien eine große Rolle. Die Plasmid-kodierten Virulenzfaktoren Ail und YadA vermitteln den Yersinien z.B. Serumresistenz (BALLIGAND et al., 1985; BLISKA und FALKOW, 1992; PIERSON und FALKOW, 1993).

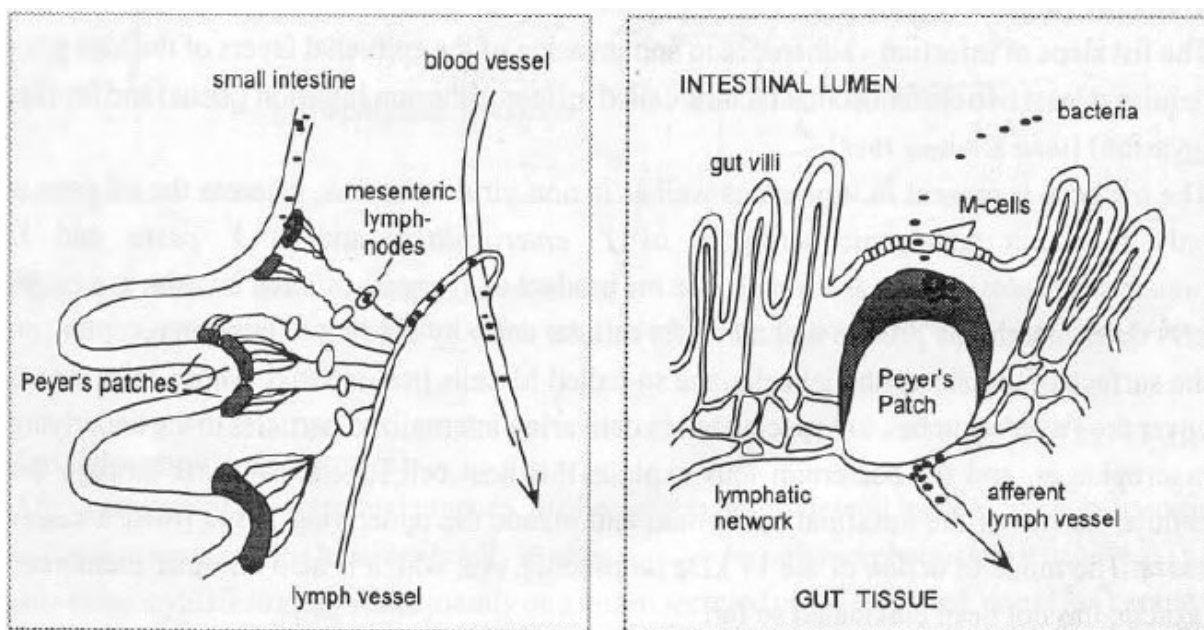


Abbildung 1: Eintrittspforte von *Y. enterocolitica* und weitere Ausbreitung im Organismus (nach GOVERDE, 1999)

## 2.2.7 *Y. enterocolitica*-Infektionen und Krankheitsbilder bei Tier und Mensch

### *Yersinia enterocolitica*-Infektionen bei Tieren

Beim Tier verläuft die *Y. enterocolitica*-Infektion überwiegend subklinisch, kann jedoch ebenfalls ein breites Symptomenspektrum hervorrufen. Von Bedeutung sind enterale und

immunpathologische Krankheitsbilder, Fruchtbarkeitsstörungen und serologische Kreuzreaktionen mit Brucellen (WIESNER und RIBBECK, 2000a).

Das Schwein hat die größte epidemiologische Bedeutung als *Y. enterocolitica*-Reservoir. Pathogene Stämme wurden häufig von klinisch gesunden Schweinen isoliert (SCHIEMAN, 1989; BOTTONE, 1997). Die latente Infektion führt erst zu einer Erkrankung, wenn ungünstige Umwelt- und Haltungsbedingungen auftreten. Jungtiere sind besonders betroffen. Bei ihnen sind katarrhalische Enteritiden, Serositiden, Arthritiden und Pneumonien zu beobachten. Bei Sauen kommt es zu Fruchtbarkeitsstörungen und Aborten (NATTERMANN et al. 1985, 1986). Außerdem treten Tonsillitiden auf (SELBITZ, 2002). Bei einem American Minipig-Ferkel konnten nach Infektion pathologisch anatomisch eine fibronekrotisierende Ileitis und Typhlokolitis festgestellt werden. Gleichzeitig traten nekrotisierende und pyogranulomatöse Veränderungen in den regionalen Lymphknoten, der Leber, der Milz und weiteren Organen auf (BRÜGMANN et al., 2001).

Mäuse dienen heutzutage vielfach in experimentellen Tiermodellen mit *Y. enterocolitica* als Wirtsspezies. In den Experimenten werden unterschiedliche Applikationsarten angewandt (oral, intravenös (i.v.), intraperitoneal (i.p.)). Die in diesen Tieren hervorgerufenen Veränderungen ähneln in vieler Hinsicht denen des Menschen bei einer *Y. enterocolitica*-Infektion. Die orale, der natürlichen Infektion entsprechende Infektion von Mäusen mit dem Erreger zieht eine systemische, pyogene Infektion nach sich, die zu Granulozytose und multiplen Abszessen, vor allem in den PP, den mesenterialen Lymphknoten, der Milz, der Leber und den Lungen, aber auch den Gelenken führt. Eine Arthritis und die Erkrankung des Erythema nodosum kann bei Mäusen anders als beim Menschen nicht als Folgeerkrankung der Yersinieninfektion beobachtet werden. Dagegen tritt ähnlich wie beim Menschen eine geringgradige, hämolytische Anämie auf. Die initialen Läsionen im Darm in Form von massiven, neutrophilen Infiltraten treten in den PP des aboralen Ileums und im Zäkum auf. Sie werden im Laufe der Infektion größer, ulzerieren ins Darmlumen und können bisweilen sogar durch die Serosa in die Bauchhöhle perforieren. Nach Dissemination in die inneren Organe treten in den mesenterialen Lymphknoten, der Milz und der Leber gut organisierte Abszesse auf. In den meisten Fällen ist eine systemische Infektion dieses Ausmaßes tödlich. Überleben die Tiere, werden nahezu alle Milz- und Leberabszesse beseitigt und die Lunge von Erregern befreit (CARTER, 1975b). Auf weitere Reaktionen einer *Y. enterocolitica*-Infektion bei der Maus wird detailliert im Kapitel 2.4 (Seite 53) eingegangen, in dem eine Vielzahl an Infektionsmodellen mit *Y. enterocolitica* beschrieben wird.

Bei Chinchillas und Feldhasen wurden *Y. enterocolitica*-Infektionen zuerst nachgewiesen. Die Sektionsbilder gleichen denen der Pseudotuberkulose. Hinzu kommen Enterokolitiden (SELBITZ, 2002). Die Pseudotuberkulose, verursacht durch *Y. pseudotuberculosis* (gelegentlich auch durch *Y. enterocolitica*) bleibt primär auf den Darm beschränkt. Nach Eintreten des Bakteriums in die Schleimhaut im Bereich der PP entstehen Mikroabszesse in der Darmwand und den regionären Lymphknoten. Es entstehen miliare bis erbsengroße Knötchen im Bereich des Hüft- und Blinddarmes, die ulzerieren oder konfluieren können (diphtheroid-nekrotisierende Typhlokolitis mit wurstartigem Aussehen). Bei Schwächung der Abwehr breiten sich die Bakterien im Organismus aus und bilden multiple, meist konfluierende, gelbliche, erhabene Herde in Leber, Milz und Nieren. Histologisch ist rund um den Bakterienrasen ein Gewebeuntergang mit einer Ansammlung von neutrophilen Granulozyten zu erkennen (DAHME und WEISS, 1999). Infektionen durch Serovare O:1, 2a, 3 Biovar 3 wurden in

verschiedenen Ländern beschrieben (NEUBAUER et al., 2001a). Bei Hasen trat in den fünfziger Jahren eine tödliche Erkrankung durch *Y. enterocolitica* auf, bei der die isolierten Stämme dem sog. „Hasentyp“ der Serovar-Biovar-Kombination 5/O:2,3 zugeordnet wurden (WUTHE und ALEKSIC, 1997). Hasen und Kaninchen zeigen hämorrhagische Enterokolitiden, fibrinöse Pleuritiden und mesenteriale Lymphadenitiden. Ebenso treten nach Neubauer et al. (2001a) eine granulomatöse Splenomegalie und Kachexie auf.

*Y. enterocolitica*-Infektionen bei Katzen verlaufen offenbar immer klinisch inapparent. Es ist jedoch noch ungeklärt, inwieweit die Tiere eine Infektionsquelle für den Menschen darstellen. Über Isolierungen aus dem Kot von Katzen konnten fast ausschließlich Stämme der Serogruppe O:1 nachgewiesen werden, die zu den am häufigsten bei menschlichen Infektionen ermittelten Stämmen gerechnet werden (WINBLAD, 1982).

Bei Hunden konnten vereinzelt pathogene *Y. enterocolitica* vom Serotyp O:3 und Biotyp 4 im Kot nachgewiesen werden. Eine Infektion findet einerseits durch infizierte, frei lebende Nager, andererseits durch die Aufnahme von rohem oder nicht vollständig erhitztem Schweinefleisch statt (FREDERIKSSON-AHOMAA et al., 2001c). Die Infektion verläuft überwiegend asymptomatisch, es werden aber auch Durchfälle, Infektionen der Anldrüsen, mesenteriale Lymphadenitiden u.ä. beschrieben (FANTASIA et al., 1993).

Das Rind kann Träger und Ausscheider von vor allem *Y. enterocolitica* Serotyp O:9, Biotyp 2 oder 3 sein (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1996). Innerhalb von experimentellen Infektionen zeigen Jungtiere intermittierende Durchfälle, Hyperplasie der Peyerschen Platten und der entsprechenden Darmlymphknoten (GARIN-BASTUJI et al., 1999). Seltene Komplikationen können Mastitiden, mesenteriale Lymphadenitiden und Aborte sein (NATTERMANN et al., 1986).

Klinische Ausbrüche von *Y. enterocolitica* wurden bei kleinen Wiederkäuern bisher selten beschrieben. In Europa kommt bei Schafen und Ziegen vor allem der *Y. enterocolitica* Serotyp O:2,3 Biotyp 5 vor (WUTHE und ALEKSIC, 1997). Dieses Biovar spielt für die Erkrankung des Menschen jedoch keine wichtige Rolle. Bei Schafen konnte der Erreger im Zusammenhang mit letalen Enteritiden nachgewiesen werden (SELBITZ, 2002). Stehen die Tiere unter Stress (Futterumstellung, Absetzen, Scheren etc.) kann es bei einer Infektion zu den typischen Symptomen des Kümmerns und des Durchfalls kommen (BIN-KUN et al., 1994).

Hühnervögel können ebenfalls erregerbelastet sein und eine Infektionsquelle für den Menschen darstellen. Vereinzelt Erkrankungen und die Isolierung pathogener Yersinien (O:3 und O:9) aus sezierten Hühnern wurden beschrieben (NATTERMANN et al., 1986). Eine vertikale Übertragung des Erregers auf die Eier wurde nachgewiesen (WIESNER und RIBBECK, 2000a).

#### Das Krankheitsbild beim Menschen bei Infektion mit *Yersinia enterocolitica*

Die klinischen Erscheinungen der Yersiniose des Menschen lassen sich in drei verschiedene Verlaufsformen einteilen: in 1. die enterale, 2. die extraintestinale und 3. die immunpathologische Verlaufsform.

Bei der Infektion des Gastrointestinaltraktes kommt es zu einer akuten Enteritis mit Fieber, einer Entzündung des Darmes mit blutigem oder wässrigem Durchfall und abdominalen

Schmerzen. Junge Erwachsene weisen eine akute, aborale Ileitis und mesenteriale Lymphadenitis auf, die eine Appendizitis vortäuschen können (BLACK et al., 1978; CHANDLER und PARISI, 1994). Der Schweregrad der pathologischen Veränderungen hängt stark vom Serotyp des Infektionskeimes ab. Während der Serotyp O:8 zu einer nekrotisierenden Enterokolitis und einer hämorrhagischen Enteritis mit extensiven Ulzerationen im Ileum und Kolon und unter Umständen zu einer Perforation, einer anschließenden Peritonitis und dem Tod führen kann (CORNELIS et al., 1987), agieren die Serogruppen O:3 und O:9 weniger destruktiv (BRADFORD et al., 1974; VANTRAPPEN et al., 1977). Bei Kindern dauert die Erkrankung drei bis 28 Tage an (LEE et al., 1990), während sie bei Erwachsenen nach ein bis zwei Wochen abklingt (VANTRAPPEN et al., 1977).

Zur extraintestinalen Verlaufsform der Infektion mit *Y. enterocolitica* gehört die Septikämie. Sie tritt prädisponiert bei Patienten auf, die gleichzeitig an Grunderkrankungen wie einer chronischen Hepatitis, an Diabetes mellitus oder Neoplasien leiden und dadurch ein geschwächtes Immunsystem aufweisen (DEDIÈ et al., 1993). Weiterhin können medikamentöse oder krankheitsbedingte Eisenüberladungen des Organismus Auslöser einer Sepsis sein, wie bei einer Thalassämie und Sichelzellanämie sowie bei der Desferrioxamin-Behandlung von Dialyse-Patienten (HEESEMAN, 1994). Über Bluttransfusionen kann der Erreger ebenfalls in den Körper gelangen (STENHOUSE und MILNER, 1982).

Infolge der Sepsis treten in seltenen Fällen auch eine generalisierte Lymphadenitis, Hepatitis und Splenomegalie auf. Fokale septische Metastasen können des Weiteren eine Meningitis, Lungen- und Leberabszesse, eine Arthritis, Osteomyelitis oder eine Endokarditis verursachen (DEDIÈ et al., 1993; BOTTONE, 1999).

Als eine weitere extraintestinale Erkrankung verursacht durch *Y. enterocolitica* kann eine Pharyngitis mit oder ohne beteiligter, zervikaler Adenopathie auftreten (ROSE et al., 1987).

Neben den mesenterialen und extramesenterialen septischen Verlaufsformen können auch aseptische extramesenteriale Begleit- oder Folgeerkrankungen im Zuge einer Yersinieninfektion auftreten. Dazu zählt das immunpathologische Krankheitsgeschehen. Die durch *Y. enterocolitica* induzierte reaktive Arthritis kommt am häufigsten vor. Es handelt sich hierbei um eine postinfektiöse, nichtseptische Arthritis, die durch eine extraartikuläre Infektion ausgelöst wird, dessen ursächlicher Erreger jedoch nicht lebend im Gelenk nachweisbar ist (PSCHYREMBEL, 1994a). Die Pathogenese des Krankheitsbildes ist noch weitgehend ungeklärt, eine genetische Prädisposition im Zusammenhang mit HLA-B27 wird jedoch angenommen. *Yersinia*-Antigen und Immunkomplexe können in der Synovia der Patienten nachgewiesen werden. Die Synovitis wird offensichtlich durch das Bakterienantigen induziert. Ein bis vier Wochen nach ursächlicher Infektion entwickeln disponierte Patienten eine Mono- oder Oligoarthritis. Die Erkrankung kann nach vier bis zwölf Wochen abklingen. Es treten jedoch auch chronisch-rezidivierende Fälle auf (HEESEMAN, 1994).

Das Erythema nodosum, auch Knotenrose genannt, ist eine akut-entzündliche Hauterkrankung der Subkutis mit perivaskulärer Infiltration und sekundärer Granulombildung. Die vor allem bei Frauen auftretende Erkrankung äußert sich klinisch in roten, bis fünf cm großen, unscharf begrenzten und nur gering erhabenen, druckschmerzhaften Knoten von teigig, derber Konsistenz. Sie kommen symmetrisch an Unterschenkelstreckseiten, Knie- und Fußgelenk, seltener an Unterarm und Gesäß vor. Die Symptome werden von allgemeinem Krankheitsgefühl, Kopf- und Gliederschmerzen und Fieber begleitet. Eine Rückbildung findet nach drei bis sechs Wochen statt. Nur selten gibt es Rezidive. Als Ursache werden eine Immun-

komplexvaskulitis und eine zellvermittelte Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ (Typ IV) im Zusammenhang mit Infektionen, darunter auch *Yersinia*-Infektionen, und anderen Erkrankungen angesehen (PSCHYREMBEL, 1994a).

Beim Reiter-Syndrom handelt es sich um eine Kombination aus Arthritis, Urethritis und Konjunktivitis, die ebenfalls HLA-B27-assoziiert ist und durch *Y. enterocolitica* ausgelöst werden kann (PSCHYREMBEL, 1994a).

Eine Übersicht über das klinische Spektrum bei und nach einer *Y. enterocolitica*-Infektion beim Menschen gibt Abbildung 2.

**Gastrointestinal**

- Enterokolitis (besonders bei kleinen Kindern, Bakteriämie als Begleiterscheinung möglich)
- Pseudoappendizitisyndrom (Kinder >5 Jahre, Erwachsene):
  - akute mesenterische Lymphadenitis
  - terminale Ileitis

**Septikämie**

- besonders bei immunsupprimierten Individuen und bei Personen mit erhöhten Eisenwerten bzw. unter Behandlung mit Desferrioxamin
- im Zusammenhang mit Transfusionen

**Metastatische Infektionen als Folge der Septikämie**

- fokale Abszesse in Leber, Niere, Milz und Lunge
- kutane Manifestation, einschließlich Cellulitis, Pyomyositis, Pusteln und bullösen Läsionen
- Pneumonie, kavernöse Pneumonie
- Meningitis
- Panophthalmitis
- Endokarditis, infizierte mykotische Aneurysmen
- Osteomyelitis

**Postinfektiöse Folgekrankheiten (assoziiert mit HLA-B27 Antigen)**

- Reaktive Arthritis
- Myokarditis
- Glomerulonephritis
- Erythema nodosum
- Morbus Reiter
- Arthralgien, Myalgien

**Pharyngitis**

Abbildung 2: Klinisches Spektrum der *Y. enterocolitica*-Infektionen beim Menschen (BOTTONE, 1997)

## 2.2.8 Diagnostik

Die Yersinien können aufgrund ihrer morphologischen, kulturellen, biochemischen und serologischen Eigenschaften und ihrer genetischen Struktur von anderen bakteriellen Erregern und innerhalb ihrer Spezies, Biovare und Serovare voneinander differenziert werden (siehe Kapitel 2.2.2, ab Seite 29). Zum Nachweis wird eine Kombination verschiedener Verfahren, abhängig vom vorliegenden Material und dem Grad der Kontamination empfohlen (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990).

### Kulturelle Nachweisverfahren

Um *Y. enterocolitica* anzuzüchten, können verschiedene nicht selektiv wirksame Nährmedien verwendet werden wie die Kaseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon (CASO), das Brain-Heart-Infusion-Medium (BHI) und die phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline, PBS). Zum Nachweis von Yersinien in Lebensmitteln werden die pathogenen *Y. enterocoliticae* durch spezifische Anreicherungsverfahren wie der Kälteanreicherung im Wachstum gefördert (DEDIÉ et al., 1993; ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990). Diverse selektive Anreicherungsbouillons werden zum Nachweis verschiedener Biovare sehr effektiv eingesetzt (WAUTERS et al., 1988; WALKER und GILMOUR, 1986).

Als feste Nährmedien werden die für die Isolation von Enterobacteriaceae üblichen Nährböden, wie z.B. MacConkey Agar, verwendet. Bevorzugt für *Y. enterocolitica* sind inzwischen jedoch spezifische, selektive Medien bevorzugt wie der Cellobiose-Arginin-Lysin-Agar (CAL, DUDLEY u. SHOTTS, 1979), das „Y“ Medium (SOLTESZ et al., 1980), der modifizierte Salmonella-Shigella-Agar mit Natriumdesoxycholat und Calciumdichlorid (SSDC, WAUTERS 1973), der „Virulente *Yersinia enterocolitica*“-Agar (VYE, FUKUSHIMA, 1987) und der Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN, SCHIEMANN, 1979).

Eine weitere biochemische Identifizierung von *Y. enterocolitica* kann mit dem Kligler-Eisen-Agar (KIA) und dem Christensen's Urea-Agar, eine Biotypisierung nach WAUTERS et al. (1987) am besten mit miniaturisierten, kommerziell erhältlichen Identifikationskits (z.B. API 20E, API Rapid 32 DIE und Micronaut, NEUBAUER, 2000) vorgenommen werden. Anhand der Koloniemorphologie, der Pyrazinamidase-Aktivität, der Salicin-Fermentation und der Äsculinhydrolyse kann eine Aussage über die Pathogenität der Yersinien gemacht werden (FARMER et al., 1992). Weiterhin kann das Plasmid-kodierte YadA im VP-Röhrchen (Voges-Proskauer-Medium, ALEKSIC et al., 1988) und das calciumabhängige Wachstum und die Kongorot-Bindungsfähigkeit bei 37°C mit dem Congo-Red-Magnesium-Oxalat-Agar (CRMOX-Agar, RILEY und TOMA, 1989) nachgewiesen werden.

### Immunologische Nachweisverfahren

Zur Identifizierung der Serotypen von *Y. enterocolitica* werden kommerziell erhältliche Agglutinationsseren gegen die O- und H- Antigene verwendet. Mit der Langsamagglutination (Widal-Reaktion) können die im Laufe einer Infektion gebildeten, humoralen Antikörper gegen O-Antigene, Yops und YadA von vor allem O:3, O:5,27, O:9 und O:8 nachgewiesen werden (ALEKSIC und BOCKEMÜHL, 1990). Unspezifische Kreuzreaktionen zwischen dem Bioserovar 2/O:9 und Bakterien der Gattung *Brucella* sind möglich (DEDIÉ et al., 1993). In der serologischen Diagnostik werden zunehmend auch der ELISA und der Immunoblot verwendet. Der Nachweis der spezifischen Anti-*Yersinia* Antikörper gegen die Yops gilt als

sicherster diagnostischer Nachweis. Hier kann jedoch keine Aussage zur Spezieszugehörigkeit oder zum Serotyp getroffen werden (HEESEMAN et al., 1986).

### Molekularbiologische Nachweisverfahren

Mithilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) ist die Detektion spezifischer Gene verschiedener chromosomal- oder Plasmid-kodierter Virulenzfaktoren möglich (NEUBAUER et al., 2001b). Zur direkten Identifizierung von *Y. enterocolitica* ohne vorherige Anreicherung oder Anzucht in Reinkulturen ist weiterhin eine DNA-Hybridisierung möglich.

## **2.2.9 Therapie**

In den überwiegend gutartigen Verläufen der enteralen Yersinieninfektion ist keine Chemotherapie erforderlich. Die Therapie beschränkt sich auf symptomatische Maßnahmen. Eine Antibiose wird von AHVONEN (1972) bei gastroenterischer Symptomatik als ineffektiv angesehen. Bei klinisch schwereren Bildern, insbesondere bei Sepsis und septischen Komplikationen sind Antibiotika indiziert. Es können Tetrazycline, Trimethoprim-Sulmethoxazol, Amoxicillin, Doxycyclin, Ciprofloxacin und Gentamycin eingesetzt werden (HOOGKAMP-KORSTANJE und STOLK-ENGELHAAR, 1995). Penicilline, wie Penicillin G, Ampicillin und Carbenicillin, und Cephalosporine der ersten Generation, wie Cefazolin, sind aufgrund der  $\beta$ -Lactamase-Produktion der Erreger nicht wirksam (DEDIÉ et al., 1993).

## **2.2.10 Charakteristika des in dieser Studie verwendeten Yersinienstammes**

In dieser Studie wurde der Stamm *Yersinia enterocolitica* E40, low-virulence strain, Serotyp O:9, Biotyp 2, isoliert 1995 in Belgien (klinisches Isolat), verwendet. Dieser Yersinienstamm besitzt zwar das Virulenzplasmid, zeichnet sich aber durch eine geringe Virulenz aus. Der Mechanismus der Eisenrekrutierung der Yersinien aus dem Wirtsorganismus ist gestört durch das Fehlen der Siderophorenbildung, kodiert in den HPIs (CHAMBERS und SOKOL, 1994; HEESEMAN, 1987). In der Folge kommt es im Stoffwechsel des Bakteriums zu einem Eisenmangel und einer verminderten Vermehrungsrate der Erreger (siehe auch Kapitel 2.2.5, ab Seite 31).

Dem Serotyp O:9 fehlt außerdem, wie auch den Serotypen O:3 und O: 5,27, das *irp2*-Gen (iron-regulated protein 2), das die Polypeptide HMWP kodiert (high molecular-weight polypeptides) und nur bei den für Mäuse hoch virulenten Yersinienstämmen des Serotyps O:8 synthetisiert wird (CARNIEL et al., 1989; DE ALMEIDA et al., 1993). Dies führt zu einer Begrenzung der oralen Infektion auf den Darm (BOTTONNE, 1997).

## 2.3 Immunbiologie

### 2.3.1 Immunantwort im Verlauf bakterieller Infektionen

Die Immunantwort eines Wirtsorganismus als Reaktion auf eine Infektion mit bakteriellen Erregern beruht auf einem sehr komplexen Zusammenspiel von angeborenen und erworbenen, adaptiven und nichtadaptiven sowohl spezifischen als auch unspezifischen Abwehrmechanismen. Diese Antworten können zellvermittelt oder auf humoraler Ebene stattfinden. Organismen sind sehr unterschiedlich erfolgreich in der Lage, auf eine Infektion zu antworten. Man unterscheidet dabei je nach Erfolg der Infektion zwischen resistenten, intermediär empfänglichen und empfänglichen Organismen.

Als Resistenz wird die angeborene Eigenschaft eines Organismus angesehen, durch die ein Tier für bestimmte Krankheitserreger gänzlich oder in hohem Maße unzugänglich ist, das heißt, eine Infektion findet nicht statt (KÖHLER, 1982a). Betrachtet wird in diesem Zusammenhang der frühe Zeitpunkt der Interaktion des Organismus mit dem Pathogen. Bei der Resistenz handelt es sich um die unspezifische Fähigkeit eines Organismus, einer Infektion zu widerstehen. Zu diesen unspezifischen Resistenzmechanismen werden genetische Faktoren, der Ernährungszustand, der hormonelle Status und psychosomatische Bedingungen des Gesamtorganismus gerechnet. Die physikalischen Bedingungen der intakten Haut- und Schleimhautoberflächen zählen zu der angeborenen unspezifischen Resistenz. Weiterhin stellen die Granulozyten und die Makrophagen die wichtigsten zellulären Komponenten des entzündlichen Abwehrsystems gegen in den Körper eingedrungene Mikroorganismen dar. Das Komplementsystem spielt des Weiteren eine große Rolle bei der Abwehr bakterieller Infektionen (GRUNDMANN et al., 1995).

Ist es zu einer Infektion gekommen, ist das Ausmaß der Immunität von großer Bedeutung zur Eindämmung und Bewältigung der Infektion. Die Immunität ist das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels von verschiedenen Immunzellen (Immunozyten) und Subpopulationen dieser Zellen sowie deren löslichen Sekretionsprodukten im Verlaufe einer Immunreaktion (KÖHLER, 1982b).

Zu Beginn einer Infektion setzen die angeborenen Immunmechanismen ein. Die angeborene Immunität befähigt den Organismus bereits zur Zeit der Geburt aufgrund spezifischer und unspezifischer immunologischer Schutzmechanismen zur immunologischen Abwehr. Sie erfolgt im Gegensatz zur erworbenen Immunität ohne vorherigen Kontakt des Organismus zu einem Fremdartigen und kann jederzeit mit der gleichen Intensität und Dauer auftreten. Ein immunologisches Gedächtnis existiert bei dieser Form der Immunantwort nicht (TIZARD, 2004a). Nach wenigen Stunden folgt die frühe, induzierte, jedoch zu keiner dauerhaften Immunität führende Antwort. Sie hilft, die Infektion unter Kontrolle zu halten, während die antigenspezifischen Lymphozyten der adaptiven Immunantwort aktiviert werden. Die nicht-adaptive Immunität trägt erheblich zur Abwehr bei. Dennoch bedarf es eines Abwehrsystems, das eindringende Organismen erkennt, diese zerstört und von diesem Prozess lernt, damit bei einem erneuten Kontakt eine schnellere und effektivere Antwort stattfinden kann. Diese Form der Abwehr leistet die erworbene Immunität (TIZARD, 2004a). Als erworbene Immunität wird der Zustand einer aktiven Immunität bezeichnet, die nicht von Geburt an ausgeprägt ist und erst nach Erwerb der Immunkompetenz als Antwort auf eine natürliche Infektion oder



eine Vakzination ausgelöst wird (WIESNER, 2000). Es handelt sich hierbei um eine adaptive Immunität, die über ein sehr spezifisches Rezeptorrepertoire der involvierten Zellen eine Vielfalt an Fremdanthigenen erkennen kann. Einige Tage werden benötigt für die klonale Vermehrung und Differenzierung der naiven Lymphozyten zu T-Effektorzellen und Antikörper-seziernden Plasmazellen (JANEWAY, 2002e). Die Mikroben werden eventuell beseitigt, und ein immunologisches Gedächtnis sorgt bei einem erneuten Kontakt des Wirtes mit dem Antigen für eine schnellere und effektivere, spezifische Abwehr (TIZARD, 2000a).

#### Angeborene, nichtadaptive Immunantwort

Zunächst bilden epitheliale Oberflächen schützende mechanische, chemische und mikrobiologische Barrieren vor der Infektion des Wirtsorganismus. Haben Erreger diese Barriere überwunden, werden sie von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten erkannt (JANEWAY, 2002b). Eindringende Mikroorganismen unterscheiden sich von den Strukturen des Wirtsorganismus. Diese so genannten pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) werden bei der angeborenen Immunantwort von bereits existierenden Rezeptoren des Wirtes erkannt. Es handelt sich hierbei um Toll-like Rezeptoren (TLRs), vor allem TLR-2 und TLR-4, sowie CD14, Glucan- und Mannan-Rezeptoren, CD36 und CD1 (TIZARD, 2004b). TLRs erkennen mikrobielle Moleküle und stimulieren eine Immunantwort über intrazelluläre Signalwege, so dass Gene transkribiert werden, die für die Immunantwort relevant sind (SING et al., 2002b). Die Aktivierung von NF $\kappa$ B durch den Toll-Signalweg führt zur Produktion von Cytokinen, Chemokinen und weiteren Molekülen, wie costimulatorischen Molekülen, die für die Induktion der adaptiven Immunantwort in späteren Phasen der Infektion unerlässlich sind (JANEWAY, 2002b). Die von den Makrophagen sezernierten Cytokine zeigen eine Vielzahl an lokalen Effekten und Fernwirkungen. Makrophagen setzen u.a. Interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-12 und TNF- $\alpha$  frei. Je nach Krankheitserreger variieren die Cytokine (JANEWAY, 2002b). Weiterhin werden Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ , Fibroblast growth factor, angiogenetische Faktoren und regulierende Matrixproteine von den Makrophagen abgegeben. Zum Ab- und Umbau des geschädigten Gewebes werden außerdem Kollagenase, Elastase und Plasminogenaktivator sezerniert (TIZARD, 2004d).

Nach Erkennung der körperfremden Strukturen durch die oben genannten Rezeptoren nehmen die Phagozyten zahlreiche Krankheitserreger über Phagozytose auf und zerstören sie. Die Mikrobizidie wird u.a. durch lysosomale Enzyme (z.B. das Enzym Lysozym) und im Verlaufe der respirativen Entladung, wie z.B. der Bildung von Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Superoxidion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), Stickstoffoxid (NO) mit Hilfe des Enzyms inducible nitric oxide synthase (iNOS), erreicht. Die iNOS katalysiert die Bildung von NO und L-Citrullin aus Sauerstoff und L-Arginin in Makrophagen. Die Bildung dieses Enzyms wird durch IFN- $\gamma$  induziert. Das einzige Cytokin, das iNOS inhibiert, ist TGF- $\beta$ . Weiterhin inhibieren CD4<sup>+</sup>-T-Zellen die iNOS-Produktion (STENGER et al., 1994).

Der alternative Weg der Komplementaktivierung bildet eine weitere nichtadaptive Verteidigungslinie gegen viele Mikroorganismen. Produkte der Komplementaktivierung locken inflammatorische Zellen an. Die Pathogene können außerdem direkt zerstört werden, oder sie werden opsonisiert, so dass Phagozyten diese Erreger aufnehmen (JANEWAY, 2002b). Durch Entzündungsmediatoren, wie z.B. TNF- $\alpha$ , werden weiterhin Endothelzellen zur Expression von Proteinen stimuliert, die eine lokale Gerinnung des Blutes verursachen. Die Ausbreitung der Infektion im Körper über das Blut wird damit verhindert (JANEWAY, 2002b).

Die Cytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-6 der Makrophagen und neutrophilen Granulozyten führen als endogene Pyrogene zur Erhöhung der Körpertemperatur und zur Auslösung der Akute-Phase-Reaktion. Von Bedeutung ist dabei besonders das gebildete C-reaktive Protein, das Partikel opsonisieren und auch direkt die Komplementkaskade aktivieren kann, und das Mannan-bindende Lektin, das ebenfalls die Komplementkaskade auslösen kann. Diese beiden Proteine besitzen ähnliche Funktionen wie Antikörper. Sie besitzen jedoch keine strukturelle Vielfalt und werden nicht gezielt und spezifisch synthetisiert (JANEWAY, 2002b).

Schließlich bewirken die von den Phagozyten produzierten Cytokine noch eine Leukozytose, die dazu beiträgt, die Infektion unter Kontrolle zu halten, während sich die adaptive Immunantwort entwickelt (JANEWAY, 2002b).

An der angeborenen Abwehr von Infektionen sind auch natürliche Killerzellen (NK-Zellen) beteiligt. Sie richten sich gegen Zellen, die intrazelluläre Pathogene aufweisen und töten sie nach Aktivierung durch Interferone und Cytokine (z.B. IL-12) der Makrophagen ab. Zellen, die MHC-Klasse-I-Moleküle an ihrer Oberfläche aufweisen, werden vor dem Abtöten verschont. Die Ausbildung dieser Moleküle an den nicht infizierten Zellen wird durch Interferone stimuliert. NK-Zellen können auch selbst dazu angeregt werden, IFN- $\gamma$  zu produzieren. IL-12 und TNF- $\alpha$  erzeugen gemeinsam dessen Bildung (JANEWAY, 2002b).

Die Mechanismen der angeborenen Abwehr werden auf den Ort der Mikrobeninvasion fokussiert und lösen dort die Entzündungsreaktionen hervor (TIZARD, 2004a). Die Entzündung hat die Funktion, weitere Effektormoleküle und -zellen sowie Plasmaproteine an den Infektionsort zu bringen, um das Abtöten der Mikroben zu verstärken. Die Inflammation wird durch die Aktivierung der Makrophagen erreicht, die wie oben beschrieben Cytokine und andere Mediatoren dazu freisetzen. Der Blutfluss wird lokal verstärkt, die Fließgeschwindigkeit des Blutes nimmt ab, und Adhäsionsmoleküle zur Bindung zirkulierender Leukozyten werden vermehrt exprimiert. Auf diese Weise findet eine verstärkte Extravasation von zunächst neutrophilen Leukozyten, später Monozyten und im weiteren Verlauf der Infektion von eosinophilen Zellen und Lymphozyten statt (siehe Kapitel 2.3.2, Seite 48). Eine erhöhte Gefäßpermeabilität sorgt weiterhin dafür, dass Plasmaproteine aus dem Blut an den Ort der Entzündung gelangen. Außerdem wird durch eine physikalische Barriere die Ausbreitung der Erreger verhindert und letztendlich die Heilung des geschädigten Gewebes gefördert (JANEWAY, 2002b).

### Erworbene, adaptive Immunantwort

Zur Aktivierung der adaptiven Immunantwort trägt die angeborene Immunität erheblich bei. Antigene und antigentragende Zellen gelangen durch eine erhöhte Flussrate der Lymphflüssigkeit in Folge der Entzündung schneller in das lymphatische Gewebe. Lymphozyten werden über Signale durch Komplementfragmente auf den Mikroorganismen und durch induzierte Veränderungen der Zellen, die die Bakterien aufgenommen haben, aktiviert. Weiterhin können aktivierte Makrophagen, die die Mikroben phagozytiert haben, T-Lymphozyten aktivieren.

Bei einer Infektion des Darmes kann die adaptive Immunantwort durch die antigenpräsentierenden Zellen der PP, typischerweise die M-Zellen im Epithel über den PP, aber auch durch DC, in den T- und B-Zell-Zonen der PP initiiert werden. Die adaptive Immunantwort kann aber auch in den regionalen, drainierenden Lymphknoten des Darmes wie oben beschrieben stattfinden. Auf diese Weise entstehen T- und B-Effektorzellen an

verschiedenen lymphatischen Lokalisationen des Körpers, d.h. direkt vor Ort in den PP und in den regionären Lymphknoten, um eine effektive, spezifische Antwort auf eine Infektion zu gewährleisten.

Das Auslösen einer adaptiven Immunantwort beginnt, wenn in einem infizierten Gewebe durch Makropinozytose und rezeptorvermittelte Phagozytose Krankheitserreger und deren Antigene von einer naiven dendritischen Zelle (DC) aufgenommen wurden. Die Aufnahme der Pathogene und die anschließende Wanderung der unreifen DC über die Lymphgefäße in die regionalen Lymphknoten werden über den Toll-Signalweg und Cytokine wie TNF- $\alpha$  ausgelöst. Im Lymphknoten kommen sie als vollständig gereifte, nichtphagozytotische DC, so genannte antigenpräsentierende Zellen (APC), an (JANEWAY, 2002a). Die reifen DC treffen im Lymphknoten auf antigenspezifische, naive T-Lymphozyten, die die klonale Selektion durchlaufen haben. Die naiven T-Lymphozyten gelangen über hochendotheliale Venolen (HEV) in den Lymphknoten (siehe Kapitel 2.3.2, Seite 48). Die DC stimulieren nun T-Zellen, indem sie ihre Zahl der Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex, MHC)-Moleküle an ihrer Oberfläche erhöhen, auf denen die Antigene präsentiert werden. Außerdem exprimieren die DC die für die Aktivierung der T-Zellen zusätzlich notwendigen costimulatorischen Moleküle CD80 und CD86 (JANEWAY, 2002b; JANEWAY, 2002e). Weiterhin führt der Kontakt mit bakterieller DNA zur Produktion der Cytokine IL-6, IL-12, IL18 und IFN- $\alpha$  sowie IFN- $\gamma$  (JANEWAY, 2002c). Nach Bindung eines Antigens an den Rezeptor eines gereiften naiven T-Lymphozyten und eines weiteren Signals von einer APC, z.B. einer DC, wird dieser aktiviert und damit zur bewaffneten T-Effektorzelle. Als weitere APC sind Makrophagen und B-Zellen zu nennen. Sie können die Lymphozyten aber nicht so effektiv wie die DC aktivieren. Die aktivierten Lymphozyten werden zur Teilung angeregt, und es entsteht ein Klon identischer Nachkommenzellen, die zu Effektorzellen differenzieren (JANEWAY, 2002a). Ihr Wachstum wird durch die eigene Bildung von IL-2 gefördert (JANEWAY, 2002c). Die Zerstörung der intrazellulären Erreger ist die Aufgabe der T-Lymphozyten, die für die zellvermittelte Immunantwort der adaptiven Immunantwort verantwortlich sind. Einerseits entstehen zytotoxische T-Zellen, die CD8+-(T)-Zellen. Sie erkennen Körperzellen, die mit Viren infiziert sind, anhand der auf der Oberfläche zusammen mit MHC-Klasse-I-Molekülen exprimierten Antigene der Viren und töten die infizierten Zellen ab. Andererseits entstehen T-Helferzellen (T<sub>H</sub>-Zellen), die das CD4-Molekül auf Ihrer Oberfläche exprimieren und daher auch CD4+-(T)-Zellen genannt werden. Der CD4-Rezeptor ist ein Teil der MHC-Klasse-II-Rezeptoren. Die CD4+-Zellen werden unterteilt in die T<sub>H1</sub>- und T<sub>H2</sub>-Zellen. Welcher der beiden Zelltypen gebildet wird, entscheidet sich in der frühen Phase der Infektion. Die Differenzierung hängt mit den Cytokinen, welche von dem Erreger hervorgerufen werden, den verwendeten Costimulatoren und dem Peptid:MHC-Ligand zusammen (JANEWAY, 2002c). Mit T<sub>H1</sub>-Zellen kommt es zu einer zellvermittelten Immunantwort. In der frühen Phase der Immunantwort gegen Viren und einige intrazelluläre Bakterien überwiegen das von den DC und Makrophagen gebildete IL-12 und das von NK-Zellen und CD8+-Zellen produzierte IFN- $\gamma$ . Die Immunantwort wird folglich von T<sub>H1</sub>-Zellen bestimmt (JANEWAY, 2002c). Makrophagen, in denen die Erreger vorliegen, werden mit Hilfe von vor allem IFN- $\gamma$  aktiviert, die Lysosomen fusionieren und die Erreger werden zerstört. Weiterhin stimulieren T<sub>H1</sub>-Zellen andere antibakterielle Mechanismen der Phagozyten (JANEWAY, 2002a). Die Anzahl der Oberflächenmoleküle der MHC-Klasse-II und B7 sowie die Anzahl von CD40 und TNF-Rezeptoren wird erhöht (JANEWAY, 2002c). B-Zellen werden zur Synthese von IgG-Antikörpern, die die Erreger

opsonieren, angeregt (JANEWAY, 2002c). Durch die von diesen  $T_H$ -Zellen freigesetzten Cytokine werden außerdem weitere Makrophagen an den Infektionsort gelockt.

Die zweite Gruppe der  $T_H$ -Zellen, die  $T_{H2}$ -Zellen, differenziert sich besonders aus  $CD4^+$ -Zellen, die durch IL-4 und IL-6 aktiviert wurden (JANEWAY, 2002e). Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Vernichtung extrazellulärer Erreger, indem sie naive antigenspezifische B-Zellen aktivieren. Dieses Signal ist zusätzlich zum Antigenreiz für die Aktivierung der B-Zellen notwendig. Die  $T_{H2}$ -Zellen stimulieren die B-Zellen zur Proliferation und zur Differenzierung zu Zellen, die spezifische IgM-Antikörper produzieren. Später werden auch IgA- und IgG-Antikörper gebildet (JANEWAY, 2002c). Die Antikörper neutralisieren oder opsonisieren die Erreger oder führen zur Aktivierung des Komplementsystems. Auf diese Weise trägt die humorale Immunantwort über die B-Zellen zur Bekämpfung extrazellulärer Pathogene bei. Bei den Antikörper-produzierenden Zellen handelt es sich um Plasmazellen (JANEWAY, 2002a). Letztere sind im Falle einer erneuten Infektion wichtig für die schnelle und effektive Beseitigung der Pathogene.

Die  $T_H$ -Zellen bilden eine Vielzahl an Cytokinen, die eine Wirkung auf andere Zellen haben. Stimuliert wird die Bildung der  $T_H1$ -Cytokine u.a. durch IL-12 und IL-18 der DC, Makrophagen und B-Zellen. Die  $T_{H2}$ -Zellen werden vor allem durch IL-1 bzw. die Abwesenheit von IL-12 zur Bildung der für sie typischen Cytokine angeregt (JANEWAY, 2002c; TIZARD, 2004f). Es spielen jedoch noch eine Reihe anderer Botenstoffe eine Rolle in der Ausbildung der jeweiligen  $T_H$ -Antwort.

Tabelle 7 soll eine Übersicht über die von den unterschiedlichen  $T_H$ -Zellen gebildeten Cytokine und ihre Funktionen geben.

Cytokin	T-Zelle (Quelle)	Wirkung auf					weitere Funktionen
		B-Zellen	T-Zellen	Makrophagen	hämatopoetische Vorläuferzellen	andere somatische Zellen	
<b>IL-2</b>	T <sub>H</sub> 0, T <sub>H</sub> 1, einige CTL	stimuliert Wachstum u. Synthese der J-Kette	<u>Wachstum</u>	-	stimuliert Wachstum der NK-Zellen	-	Induktion IFN- $\gamma$ , IL-5; Regulation TNF- $\alpha$ -Rezeptor-Expression
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	T <sub>H</sub> 1, CTL	Differenzierung, IgG2a-Synthese	hemmt Wachstum von T <sub>H</sub> 2-Zellen; $\uparrow$ MHC-Klasse-I	<u>Aktivierung, Bildung von NOS2; <math>\uparrow</math> MHC-Klasse-I, MHC-Klasse-II</u>	aktiviert NK-Zellen $\rightarrow$ Bildung von IFN- $\gamma$	antiviral; $\uparrow$ MHC-Klasse-I, MHC-Klasse-II	$\uparrow$ IL-2, IL-2R von T <sub>H</sub> 1; $\downarrow$ IL-4 von T <sub>H</sub> 2
<b>LT, TNF-<math>\beta</math></b>	T <sub>H</sub> 1, einige CTL	hemmt/ aktiviert	tötet	<u>aktiviert, induziert NO-Produktion</u>	aktiviert Neutrophile	tötet Fibroblasten u. Tumorzellen; aktiviert Neutrophile, Endothelzellen	
<b>IL-4</b>	T <sub>H</sub> 2	<u>Aktivierung, Wachstum, IgG1, IgE, <math>\uparrow</math> Induktion MHC-Klasse-II</u>	<u>Wachstum, Überleben</u>	hemmt Makrophagenaktivierung; $\uparrow$ MHC-Klasse-II, zytotoxische Aktivität, Ag-Präsentation; $\downarrow$ IL-1-, IL-6- u. TNF- $\alpha$ -Sekretion	$\uparrow$ Wachstum von Mastzellen	-	Funktionen neutralisiert von IFN- $\gamma$ $\rightarrow$ $\uparrow$ IL-1-, IL-6- u. TNF- $\alpha$ -Sekretion in Makrophagen
<b>IL-5</b>	T <sub>H</sub> 2	Differenzierung, IgA-Synthese	-	-	$\uparrow$ Wachstum u. Differenzierung von Eosinophilen	-	
<b>IL-9</b>	T <sub>H</sub> 2	-	Wachstum	-	-	-	$\uparrow$ Effekte von IL-4 auf IgE-Produktion
<b>IL-10</b>	T <sub>H</sub> 2	MHC-Klasse-II	hemmt T <sub>H</sub> 1-Cytokin-Synthese (IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ )	hemmt Freisetzung von Cytokinen (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), Oxidantien	costimuliert Wachstum von Mastzellen	-	immunosuppressiv, antiinflammatorisch
<b>IL-13</b>	T <sub>H</sub> 2	Wachstum; $\uparrow$ Ig-Sekretion	-	hemmt Makrophagen-Funktionen ( $\downarrow$ IL-1-, IL-6-, IL-12-, NO-Produktion); $\uparrow$ Integrinexpression	-	-	lockt Monozyten an
<b>IL-3</b>	T <sub>H</sub> 1, T <sub>H</sub> 2, einige CTL	-	-	-	<u>Wachstumsfaktor für Vorläufer hämatopoetischer Zellen (multi-CSF)</u>	-	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	T <sub>H</sub> 1, einige T <sub>H</sub> 2 u. CTL	-	-	<u>aktiviert, induziert NO-Produktion</u>	-	<u>aktiviert mikrovaskuläres Endothel; <math>\uparrow</math> Fibroblastenproliferation, Kollagen-synthese</u>	wirkt über TNF- $\alpha$ -Rezeptor über Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B
<b>GM-CSF</b>	T <sub>H</sub> 1, einige T <sub>H</sub> 2 u. CTL	Differenzierung	hemmt Wachstum	Aktivierung, Differenzierung zu DC	<u><math>\uparrow</math> Bildung von Granulozyten u. Makrophagen (Myelopoese) u. DC</u>	-	
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	CD4-T-Zellen	hemmt Wachstum; Faktor für IgA-Klassenwechsel	-	hemmt Aktivierung	aktiviert Neutrophile	hemmt/stimuliert Zellwachstum	

Tabelle 7: Übersicht über die von den T<sub>H</sub>-Zellen gebildeten Cytokine und ihre Funktionen

In der Tabelle sind die wichtigsten Aktivitäten der Effektorcytokine unterstrichen.  $\uparrow$  = Zunahme;  $\downarrow$  = Abnahme; CTL = zytotoxische T-Zellen; LT = Lymphotoxin; TNF- $\beta$  = Tumornekrosefaktor  $\beta$ ; GM-CSF = Granulozyten-Monozyten-koloniestimulierender Faktor; TGF- $\beta$  = transformierender Wachstumsfaktor  $\beta$  (JANEWAY, 2002c; TIZARD, 2004f)

## 2.3.2 Zelltrafficking von Immunzellen

Während einer Infektion werden Immunzellen durch verschiedenste Moleküle im Bereich der Entzündung in die infizierten Gewebebezirke gelockt. Es findet ein komplexes Zusammenspiel zahlreicher immunologischer Botenstoffe, Rezeptoren und Liganden statt, um eine effektive immunologische Antwort zu erzeugen. Chemotaktisch aktive Cytokine, so genannte Chemokine, induzieren eine gerichtete Chemotaxis bei den in der Nähe vorhandenen reaktiven Zellen. Chemokine geben ihre Signale über angekoppelte G-Proteine weiter und wirken als Chemoattraktoren für Leukozyten. Sie mobilisieren Monozyten, neutrophile Granulozyten und andere Effektorzellen aus dem Blut und leiten sie zu den Infektionsherden (JANEWAY, 2002b). Die Mobilisierung wird von Zelladhäsionsmolekülen vermittelt, deren Expression an der Oberfläche des lokalen Gefäßendothels durch Cytokine wie z.B. TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  induziert wird (JANEWAY, 2002b). Die Extravasation erfolgt in mehreren aufeinander folgenden Schritten: Selektine und/oder Integrine ermöglichen das Rollen der Blutzellen entlang der Gefäßwand. Die Adhäsionsmoleküle des Gefäßendothels binden die entsprechenden Rezeptoren an der Oberfläche der Immunzellen und führen zusammen mit Integrinen zu einem festen Binden der rollenden Zellen und schließlich zum Übertritt dieser in die entzündeten Areale. Entlang eines Konzentrationsgradienten der Chemokine und Cytokine wandern die Immunzellen im Anschluss in die betroffenen Gewebebezirke.

### Granulozyten und Monozyten

Infiltrierende neutrophile Granulozyten und Makrophagen prägen das zelluläre Bild in den Anfängen der Immunabwehr in den entzündeten Arealen. Am ersten Schritt der Extravasation der Leukozyten sind Selektine beteiligt. P-Selektin (CD62P) erscheint durch Leukotrien B<sub>4</sub>, das Komplementfragment C5a, Histamin, TNF- $\alpha$  oder Lipopolysaccharide an der Oberfläche der Gefäßendothelien. TNF- $\alpha$ , IL-1 und Lipopolysaccharide induzieren etwas später die Bildung von E-Selektin (CD62E). Die beiden Selektine wechselwirken mit der sulfatierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheit von bestimmten Glycoproteinen der Leukozyten und führen zur reversiblen Anheftung der Zellen, so dass diese an den Endothelien entlang rollen (JANEWAY, 2002b). Entsprechend ist auch die Bindung von L-Selektin und dem peripheral node adressin (PNAd) der erste Schritt der Monozytenadhäsion zu den Lymphknoten-HEV (PALFRAMAN et al., 2001). Im zweiten Schritt aktiviert der platelet-activating factor (PAF) die neutrophilen Granulozyten, so dass diese das funktionelle Leukozytenantigen (LFA)-1 (CD11a/CD18) exprimieren (TIZARD, 2004c). Anschließend treten Wechselwirkungen zwischen den Leukozytenintegrinen LFA-1 bzw. dem monocyte attractant chemokine (MAC)-1 (im Falle der Monozyten) und den Adhäsionsmolekülen des Endothels wie z.B. dem  $\beta_2$ -Integrin intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 (CD54) auf. Die Expression von ICAM-1 wird durch TNF- $\alpha$  gefördert. LFA-1 und MAC-1 machen durch u.a. IL-8 eine Konformationsänderung durch, wodurch eine normalerweise schwache Adhäsion in eine erhöhte Adhäsionskapazität umgewandelt wird. In der Folge heften die Leukozyten fest an das Endothel an. Für die Diapedese sind einerseits die Integrine LFA-1 und MAC-1 wichtig. Andererseits spielt das Protein platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM oder CD31) eine adhäsive Rolle (JANEWAY, 2002b; LIAO et al., 1999). Es wird sowohl auf Leukozyten als auch an den Verbindungsstellen zwischen den Epithelzellen exprimiert. Die Leukozyten drängen sich

zwischen die Endothelzellen und gelangen mithilfe proteolytischer Enzyme durch die Basalmembran. Im letzten Schritt wandern die Leukozyten entlang eines Konzentrationsgradienten bestimmter Chemokine in das infizierte Gewebe (JANEWAY, 2002b). Makrophagen werden auf der einen Seite durch bakterielle Produkte und Produkte der Komplementaktivierung, wie C5, Moleküle von geschädigten Zellen und Geweben angelockt. Auf der anderen Seite werden die Monozyten und Makrophagen durch das von neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen unter dem Einfluss von IL-6 freigesetzte monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 zum Infektionsherd dirigiert (TIZARD, 2004d). Bei den neutrophilen Granulozyten handelt es sich bei dem richtungweisenden Chemokin um IL-8 (JANEWAY, 2002b). Auf dem Weg zum Entzündungsherd werden die neutrophilen Zellen beim Zusammentreffen mit IL-8, C5a und TNF- $\alpha$  über eine respiratorische Entladung aktiviert, und Speichergranula werden freigesetzt. Oxidantien aktivieren Gewebemetalloproteasen, die wiederum dazu führen, dass vermehrt TNF- $\alpha$  von Makrophagen freigesetzt wird und damit weitere neutrophile Granulozyten angelockt werden (TIZARD, 2004c). Auf diese Weise tragen die neutrophilen Zellen bei einer Infektion zur Immunabwehr, zur lokalen Zerstörung des Gewebes und zur Eiterbildung bei (JANEWAY, 2002b). Die Makrophagen haben ebenfalls eine entscheidende Rolle in der Infektabwehr durch die Phagozytose der Erreger, deren Abtötung und Prozessierung, die Initiierung der adaptiven Immunantwort, die Freisetzung zahlreicher Botenstoffe und letztendlich in der Organisation und Heilung des infizierten Gewebes.

### Lymphozyten

Naive T-Zellen zirkulieren zwischen dem Blut und den lymphatischen Organen. Sie gelangen über die HEV aus dem Blut in das lymphatische Gewebe. Dort treffen sie auf viele Tausende antigenpräsentierende Zellen, deren MHC:Peptid-Komplexe sie durchmustern. Einerseits erhalten sie Überlebenssignale bei Selbst-MHC:Selbst-Peptid-Komplexen, andererseits treffen sie auf diese Weise auf Antigene von Krankheitserregern aus den Infektionsherden. Begegnen die T-Zellen nicht ihrem spezifischen Antigen, das eine adaptive Immunantwort auslöst, gelangen sie ins Mark der Lymphknoten und werden über die efferenten Lymphbahnen wieder ins Blut geschleust, um weitere lymphatische Gewebe nach Fremdanthigenen „abzutasten“. Erkennen die naiven T-Zellen jedoch ihr spezifisches Antigen, beenden sie ihre Wanderung. Nach mehreren Tagen entstehen bewaffnete T-Effektorzellen, die das Lymphorgan verlassen, in den Blutstrom zurückkehren und so zu den Infektionsherden gelangen (JANEWAY, 2002c). Naive T-Zellen, die in den organisierten lymphatischen Geweben des Darmes auf Fremdanthigene treffen und aktiviert werden, erlangen den Effektorstatus und werden aus dem Darm mit der Lymphe abtransportiert. Sie passieren die mesenterialen Lymphknoten, gelangen über den Ductus thoracicus in den Blutkreislauf und zirkulieren damit durch den gesamten Körper. Aus den Kapillaren der Darmschleimhäute und anderen Bereichen des Mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebes (MALT) gelangen sie dann erneut über spezifische Homingrezeptoren, z.B. das mucosal addressin cell adhesion molecule (MAdCAM)-1, in die lymphatischen Gewebe der Schleimhäute (JANEWAY, 2002e).

Selektine sind wie bei den Granulozyten und Monozyten auch bei den Lymphozyten von Bedeutung, damit diese Zellen in spezifischen Geweben ihren Bestimmungsort erreichen. L-Selektin ist für das Homing der naiven T-Zellen bei ihrer Wanderung durch das Blut in die peripheren Lymphgewebe zuständig. Zusätzlich zu L-Selektin leiten außerdem P- und E-

Selektin die Effektorzellen in die Entzündungsgebiete (ARBONES et al., 1994; JANEWAY, 2002b). Die verschiedenen T<sub>H</sub>-Zellen weisen eine unterschiedliche Expression der P- und E-Selektin-Rezeptoren wie auch des Rezeptors für Eotaxin (CCL11) auf, weshalb sie in verschiedene Typen des entzündeten Gewebes migrieren können (TIZARD, 2004e). L-Selektin bindet an vaskuläre Adressine auf dem Gefäßendothel der HEV. In den Lymphknoten handelt es sich dabei um die Adressine CD34, GlyCAM (glycosylation dependent cell adhesion molecule) und PNA<sub>d</sub>. Auf Endothelien der Schleimhaut wie im intestinalen lymphatischen Gewebe (z.B. den PP) binden die Selektine an (vor allem das auf der Gefäßoberfläche exprimierte MAdCAM-1). Nach der Bindung kommt es zu einem vorübergehenden Kontakt der Leukozyten mit dem stimulierten Endothel, das ein sequentielles Rollen der Zellen entlang der Gefäßwand ermöglicht.  $\alpha$ 4-Integrine auf den Lymphozyten führen daraufhin zum Festhalten der Zellen (JANEWAY, 2002c). Sie bilden eine Brücke zwischen den Selektin- und den  $\beta$ 2-Integrin-abhängigen Ereignissen (BARGATZE et al., 1995). Es konnte sogar beobachtet werden, dass  $\alpha$ 4-Integrine einen Lymphozytenkontakt in Abwesenheit von Selektinen initiieren können (BERLIN et al., 1995). Im Darm bindet MAdCAM den Liganden  $\alpha$ 4 $\beta$ 7-Integrin. Auf diese Weise wird das durch L-Selektin initiierte Rollen verlangsamt (WARNOCK et al., 1998). Während das Adhäsionsmolekül MAdCAM-1 in inflammatorischen Foci zwar vermehrt exprimiert wird (BRISKIN et al., 1997), ist unter Infektionsbedingungen in mukosalen Gebieten dagegen eher VCAM (vascular cell adhesion molecule)-1 mit dem  $\alpha$ 4 $\beta$ 1-Integrin very late activation antigen (VLA)-4 als Ligand auf den Lymphozyten von Bedeutung (BERLIN-RUFENACH et al., 1999; JANEWAY, 2002e). VCAM-1 und ICAM-1 werden durch TNF- $\alpha$  während einer Entzündungsreaktion vermehrt auf den Oberflächen der Endothelzellen exprimiert (PELED et al., 2000). ICAM-1 und ICAM-2 führen unter anderem zur Aktivierung der T-Lymphozyten (JANEWAY, 2002c). Zur festen Adhäsion der Lymphozyten kommt es nach Aktivierung des  $\beta$ 2-Integrins LFA-1 auf der Lymphozytenoberfläche (JANEWAY, 2002c). Diese Aktivierung kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Chemokine spielen hierbei eine große Rolle. Sie triggern die Leukozytenadhäsion über Pertussistoxin (PTX)-sensitive G-Protein-vermittelte intrazelluläre Signalwege (BARGATZE und BUTCHER, 1993). Einerseits führt die Bindung des Chemokins secondary lymphoid tissue chemokine (SLC, CCL21, thymus-derived chemotactic agent 4, TCA-4) an seinen Rezeptor CCR7 auf den Leukozyten zur Aktivierung von LFA-1 (JANEWAY, 2002c; STEIN et al., 2000). Andererseits erzeugt aber auch die Bindung des Chemokins CCL19 (Epstein Barr virus-induced molecule 1 ligand chemokine, ELC, macrophage inflammatory protein-3 $\beta$ , MIP-3 $\beta$ , exodus 3) an den gleichen Rezeptor eine ähnliche Wirkung. Das Fehlen von LFA-1 kann kompensiert werden durch andere Adhäsionsmoleküle wie CD2 und  $\beta$ 1-Integrine (CD49d), auch VLAs genannt. Sie können ebenfalls zu einer festen Bindung der Lymphozyten führen und vom stromal derived factor-1 (SDF-1, CXCL12) bei dessen Bindung an seinen Rezeptor CXCR4 aktiviert werden (PELED et al., 2000). Sind die Leukozyten fest gebunden, kann die Migration durch das Endothel und eine Wanderung im Gewebe entlang eines Chemokingradienten erfolgen.

Das Zelltrafficking der B-Zellen verläuft in den Grundsätzen ähnlich wie das der T-Zellen. Reife B-Zellen wandern mit dem Blutkreislauf in die Lymphknoten und verlassen sie wieder über die efferenten Lymphbahnen. Auch die B-Zellen gelangen über das Rollen entlang der Gefäßwand, dem Festhalten und dem festen Binden schließlich durch die Gefäßwand hindurch ins Gewebe und wandern zu ihrem Zielort. Unterschiede bestehen in den beteiligten Rezeptoren und den Liganden für die Extravasation und die Wanderung im Gewebe. Als



Adhäsionsmolekül spielt das VCAM-1 bei den B-Lymphozyten eine wichtige Rolle. Es hält B-Zellen im Knochenmark während der „Reifung“ bis zu einer bestimmten Entwicklungsstufe zurück und ist für die Lokalisation der B-Zellen im Knochenmark während der Rezirkulation der B-Lymphozyten verantwortlich (LEUKER et al., 2001; KONI et al., 2001). Eine VCAM-1-Defizienz hat eine gestörte T-Zell-abhängige humorale Immunantwort zur Folge. Die B-Zellmigration in die Keimzentren ist dabei gestört, die Kontakte der B-Zellen mit den folliculären dendritischen Zellen sind in der Folge verringert, und damit kann keine effiziente B-Zell-Proliferation stattfinden (LEUKER et al., 2001).

Für die Organisation der lymphatischen Organe sind Chemokine und ihre Rezeptoren verantwortlich. CCR7 ist dabei vor allem für die Rekrutierung von naiven T-Zellen und antigen-präsentierenden DC in die T-Zell-reichen Gebiete der sekundären lymphatischen Organe verantwortlich. CXCR5 mit seinem Liganden CXCL13 dagegen fördert die B-Zell-Migration und damit die Organisation der B-Zell-Follikel. Insgesamt wirken diese Chemokine und ihre Rezeptoren synergistisch, auch bei der Lokalisation der B-Zellen in der T-Zell-Zone. In der Milz konnte beobachtet werden, dass folliculäre B-Zellen nach Antigenkontakt CCR7 hochregulieren und so zur T-B-Zell-Grenze migrieren, wo sie Hilfe von den für das gleiche Antigen spezifischen T-Helferzellen erhalten. Die B-Zellen treten in die weiße Pulpa über den Marginalsinus über darin enthaltene überbrückende Kanäle ein und wandern CXCR5-abhängig in die B-Zell-Follikel (OHL et al., 2003). Weiterhin kommt CXCL12 in der roten Pulpa und den überbrückenden Kanälen in der weißen Pulpa der Milz vor (HARGREAVES et al., 2001). In den Lymphknoten stellen wie bei den T-Zellen die Chemokine CCL19 und CCL21 mit ihrem Rezeptor CCR7 die Hauptfaktoren für das Homing der B-Zellen dar. CXCR4 mit seinem Liganden CXCL12 in den Marksträngen kann in Abwesenheit von CCR7 einen Teil des Homings übernehmen. In den PP dagegen tragen die oben genannten Chemokine und ihre Rezeptoren nur zur Hälfte zum Homing der B-Lymphozyten bei. Die andere Hälfte wird von dem Chemokinrezeptor CXCR5 mit seinem Liganden CXCL13 übernommen (OKADA et al., 2002). Die Unterschiede im HEV-Chemokin-Code führen zu Unterschieden in der Effektivität im Homing der Lymphozyten zu den verschiedenen lymphatischen Organen. Die T- und B-Lymphozyten werden außerdem unterschiedlich lange in den Geweben gehalten. Dies führt auch zur B-Zell-Dominanz in den PP (OKADA et al., 2002).

### Plasmazellen

Plasmazellen werden bei einer T-Zell-abhängigen Immunantwort in den lymphatischen Geweben gebildet. Treten Infektionen des Darmes auf, können Plasmazellen direkt im Darm-assoziierten lymphatischen Gewebe (GALT) differenzieren. Dazu zählen auch die PP. Weiterhin können die Antikörper-produzierenden Zellen aber auch in den regionalen Lymphknoten oder in der Milz und später im Verlaufe der Infektion im Knochenmark gebildet werden (HARGREAVES et al., 2001). Wandernde B-Zellen gelangen über die HEV in den T-Zell-Bereich des Lymphgewebes. Der größte Teil der B-Zellen passiert diese Zone schnell und gelangt in den B-Zell-Bereich, die Primärfollikel. B-Zellen, die dagegen Antigene gebunden haben, verbleiben im Bereich der T-Zell-Zone am Rand der Follikel und wechselwirken mit T-Helferzellen. Es wird ein Primärfocus klonaler Vermehrung gebildet, wobei B- und T-Zellen einige Tage im Übergang zwischen T- und B-Zell-Zone proliferieren. Der Primärfocus bildet sich zurück und einige der proliferierenden B-Zellen entwickeln sich zu Plasmazellen

(JANEWAY, 2002d). In der Milz gelangen die proliferierenden B-Zellen über überbrückende Kanäle in der Marginalzone zu Arealen nahe der Gefäße oder kollagenen Fasern in der roten Pulpa. Im Lymphknoten sind Plasmazellen zwischen den lymphatischen Sinus der Markstränge verteilt (HARGREAVES et al., 2001). Die Plasmazellen sezernieren hier spezifische Antikörper direkt ins Blut, die anschließend im gesamten Körper verteilt werden (JANEWAY, 2002e). Weiterhin gelangen die Plasmazellen in die Blutbahn und erreichen über die HEV den Infektionsherd. Einige der proliferierenden B-Zellen wandern in einen primären Lymphfollikel, in dem sie sich weiter vermehren und schließlich einen sekundären Follikel mit einem Keimzentrum bilden (JANEWAY, 2002d). Nach wenigen Tagen entwickeln sich aus den germinalen Zentrums-Zellen B-Gedächtniszellen und weitere Plasmazellen (HARGREAVES et al., 2001). Als Plasmablasten wandern sie zu den primären Marksträngen oder verlassen die Lymphknoten über die efferenten Lymphbahnen. Plasmablasten aus den Milzfollikeln und den peripheren Lymphknoten wandern ins Knochenmark. Die Vorläuferzellen der Plasmazellen aus den PP und den mesenterialen Lymphknoten gelangen über die Lymphe und das Blut zur Lamina propria des Darmes und anderer Epitheloberflächen. Die B-Gedächtniszellen streifen weiter durch die B-Zell-Zonen des sekundären Lymphgewebes (JANEWAY, 2002e).

Für die Bewegung der Plasmazellen z.B. in die Markstränge der Lymphknoten und nachfolgend für den Eintritt in die efferente Lymphe sind Verluste der Chemokinrezeptorexpression und der Chemokinbeantwortung notwendig (WEHRLI et al., 2001). Die Chemokinrezeptoren CXCR5 und CCR7 werden von Plasmazellen herunterreguliert, so dass die Beantwortung des B-Zell-Zonen-Chemokins CXCL13 und der T-Zell-Zonen-Chemokine CCL19 und CCL21 reduziert ist. Für Plasmazellen spielt dagegen CXCR4 eine wichtige Rolle in der Lokalisierung in der Milz und im Knochenmark in der Nähe von Gefäßen und Fasern. Die Beantwortung von CXCL12 nimmt bei Plasmazellen zu (HARGREAVES et al., 2001). Des Weiteren ist die unterschiedliche Expression der Chemokinrezeptoren wichtig, um die Plasmazellen abhängig vom Isotyp der gebildeten Immunglobuline in ihr finales Zielgewebe zu leiten. IgA-produzierende Plasmazellen der Milz, der PP und der mesenterialen Lymphknoten migrieren mit ihrem Rezeptor CCR9 hin zu CCL25 (TECK, thymus-expressed chemokine), das von Epithelzellen des Dünndarmes gebildet wird, und mit ihrem Chemokinrezeptor CXCR4 zu dem Liganden CXCL12. Plasmazellen des Isotyps IgG und IgM beantworten CCL25 nicht, sondern migrieren hin zu den Chemokinen CXCL12 und CXCL9. Plasmablasten werden von CXCR3 und CXCR4 in entzündetes Gewebe und das Knochenmark geleitet (BOWMAN et al., 2002; PABST et al., 2004). In chronischen Entzündungsgebieten spielen die Chemokine CXCL12 und CXCL13 zum Anlocken der Plasmazellen eine Rolle (OKADA et al., 2002).

Neben den Chemokinen und ihren Rezeptoren sind weitere Faktoren in der Bewegung und der Extravasation der Plasmazellen von Bedeutung. Dazu gehören extrazelluläre Matrixproteine, Integrine und Adhäsionsmoleküle. Im Knochenmark sind CD22 und VCAM-1 zusammen mit  $\alpha 4$ -Integrinen wichtig. Plasmazellen exprimieren  $\alpha 4\beta 1$ -Integrine wie den VCAM-1-Liganden VLA-4. Dieser wird bei der Bindung von CXCL12 aktiviert (HARGREAVES et al., 2001). KONI et al. (2001) nehmen an, dass bei einer Defizienz von VCAM-1 Antikörper-produzierende Zellen in ihrer Differenzierung und Langlebigkeit gestört sind. Treten in mukosalen Bereichen Infektionen auf, wird VCAM-1 auf den HEV vermehrt exprimiert. Das Integrin VLA-4 auf den Plasmazellen wird nach Aktivierung fest gebunden und die Plasmazellen können aus dem Blut ins Gewebe wandern.

## 2.4 Mausinfektionsmodelle für *Yersinia enterocolitica*

In der Literatur existiert eine Vielzahl an Mausinfektionsmodellen für *Y. enterocolitica*. Sie wurden mit unterschiedlichen Zielen etabliert. Arbeitsgruppen nutzten Mausinfektionsmodelle mit *Y. enterocolitica*, um anhand eines repräsentativen und praktikablen Tiermodells die Yersiniose des Menschen weiter zu erforschen. Hier war wichtig, dass die Infektion des Versuchstieres und der Verlauf der Infektion mit den daraus folgenden spezifischen Veränderungen denen des Menschen ähnelten. Weiterhin war von Interesse, Kenntnisse über die Eigenschaften des Erregers wie z.B. seine Virulenz, Pathogenese, etc. zu erlangen. Ein weiteres Forschungsgebiet ist die Immunologie. Im Mittelpunkt steht die Wirtsabwehr gegenüber einer Bakterieninfektion am Modell von *Y. enterocolitica*. Zuletzt wurden auch Vergleiche verschiedener Mausstämmen auf die Infektion mit diesem Bakterium durchgeführt. Teilweise wurden Inzucht-Mausstämmen eingesetzt, um die grundsätzlich unterschiedlichen Reaktionen auf die Yersinien zu ermitteln. Weiterhin wurden Knock out-Mäuse infiziert, um festzustellen, inwieweit bestimmte Faktoren in der Infektion eine Rolle spielen. Häufig greifen die Untersuchungen ineinander, so dass mehrere Ansatzpunkte innerhalb einer Studie betrachtet werden können. In verschiedenen Infektionsversuchen konnte festgestellt werden, dass genetische Faktoren für die unterschiedliche Empfänglichkeit der Mausstämmen eine Rolle spielen (CHEERS und MCKENZIE, 1978; GOLDMANN et al., 2004; HANCOCK et al., 1988).

Die Infektionen fanden je nach Untersuchungsziel der Studie auf unterschiedlichem Infektionsweg und mit unterschiedlichen Yersinien- und Mausstämmen statt. Eine Übersicht über die verschiedenen Mausinfektionsmodelle mit *Y. enterocolitica* gibt Tabelle 34 im Anhang wieder.

Im folgenden Abschnitt 2.4.1 sollen makroskopische und vor allem histologische Veränderungen der Organe verschiedener Yersinien-Infektionsmodelle beschrieben werden. Im Kapitel 2.4.2 (ab Seite 57) werden verschiedene Mausstämmen im Verlaufe von Infektionen mit *Y. enterocolitica* intensiver verglichen und die Faktoren näher betrachtet, die für die Empfänglichkeit und die Abwehr der Infektion eine wichtige Rolle spielen.

### 2.4.1 Makroskopische und histologische Veränderungen während der *Y. enterocolitica*-Infektion von Mäusen

Auf der Suche nach einem Tiermodell, das bei den infizierten Tieren Veränderungen aufweist, die denen des Menschen im Verlaufe einer Yersiniose und denen des Meerschweinchens bei einer *Y. pseudotuberculosis*-Infektion ähneln, entwickelte CARTER als erster ein Mausinfektionsmodell einer oralen *Y. enterocolitica*-Infektion (CARTER, 1975a; CARTER, 1975b). Auf die Durchführung und Ergebnisse seines Tiermodells beziehen sich viele nachfolgende Infektionsversuche mit *Y. enterocolitica*. CARTER infizierte spezifizierte Pathogen-freie CD-1-Mäuse oral bzw. intravenös (i.v.) mit *Y. enterocolitica* WA (ATCC 27729; NCTC 10938) und führte makroskopische, histologische, hämatologische und serologische Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten der Infektion durch.

Nach der i.v.-Infektion wurde eine Leukozytose, eine Linksverschiebung des weißen Blutbildes und eine Antikörperbildung (zwei Wochen p.i.) gegen *Y. enterocolitica* festgestellt. Veränderungen der Organe traten vor allem in Milz, Leber und Lunge auf. In der Lunge konnten kleine Hämorrhagien und in der Milz kleine, cremeweiße Knötchen gefunden werden. In allen drei Organen traten Abszesse auf, deren Größe und Zahl im Laufe der Infektion zunahmen. Ab Tag 4 p.i. starben Tiere; 6 Tage p.i. waren alle Tiere todkrank. Histologisch konnten in der Milz einen Tag p.i. massive Infiltrationen mit neutrophilen Granulozyten beobachtet werden. Nach zwei Tagen p.i. war im Bereich der Läsionen in der roten Pulpa eine beginnende Organisation in der Peripherie zu erkennen, während das Zentrum der Läsionen von Polymorphkernigen, Debris und eosinophilem Material geprägt war. Leber und Lungen wiesen ebenfalls fokale Infiltrate von Polymorphkernigen auf, die in der Lunge in ihrem Ausmaß sogar zur Zerstörung der Alveolarmorphologie führten. Sieben Tage nach der Infektion waren alle drei Organe vergrößert und nekrotisch. Keine Läsionen waren in den Nieren, den peripheren (PLN) und mesenterialen (MLN) Lymphknoten, dem Darm und den PP zu finden.

Nach der intrastralen Infektion der Mäuse sank die Blutleukozytenzahl zunächst, dann stieg sie im Verlaufe der Infektion an. Vornehmlich die Zahl der neutrophilen Granulozyten war dabei betroffen. Es trat weiterhin eine Linksverschiebung auf und bis zum Tag 16 der Infektion konnte kein Antikörper-Titer gemessen werden. In den PP des distalen Ileums konnte eine neutrophile Infiltration beobachtet werden mit nachfolgender Streuung in die mesenterialen Lymphknoten. Hier traten große Abszesse in den medullären Bereichen auf. Anschließend kam es zur systemischen Infektion mit gut organisierten Leber-, Milz- und Lungenabszessen. Makroskopisch waren in den ersten Tagen der Infektion die PP des distalen Ileums geschwollen und hyperämisch. Weitere Gewebe waren zunächst nicht verändert. Nach fünf Tagen p.i. waren auch die MLN geschwollen und wiesen ähnliche Läsionen auf wie während der i.v.-Infektion. Nach zwölf Tagen p.i. traten große Läsionen in Leber, Milz und Lunge auf. Die Mediastinallymphknoten und die PP waren stark vergrößert und eitrig verändert. 14 Tage p.i. ulzerierten einige PP in die Peritonealhöhle und verursachten Adhäsionen mit der Peritonealwand. Die MLN waren hämorrhagisch und stark eiternd, der Thymus verkleinert. Histologisch waren bereits 24 Stunden nach der Infektion Neutrophilensammlungen zwischen der Mukosa und den Lymphfollikeln der PP des distalen Ileums und des Zäkums zu erkennen. Die PP des oberen Dünndarmes, die Lamina propria, die gegenüber den PP gelegen war, und das restliche Dünndarmgewebe zeigten keine Veränderungen. Fünf Tage nach der Infektion war die Architektur der infizierten PP vollkommen zerstört, und Abszesse ulzerierten ins Darmlumen. In den MLN waren in den medullären Bereichen eosinophile, nekrotische Zentren mit Zelldebris und amorphem Material anzutreffen. Leber und Milz wiesen ähnliche Veränderungen wie die MLN auf, jedoch war der Granulozytentyp ausschließlich neutrophil. Die Lunge wies eine eitrig-pneumonische Infiltration, Exsudation in die Alveoli und Abszesse auf. In den Mediastinallymphknoten wurden Plasmazellansammlungen gefunden. 16 Tage p.i. konnte eine deutliche Verringerung der makroskopisch sichtbaren Läsionen in der Milz beobachtet werden. Sie war hypertroph und wies keine Nekrose mehr auf. Eine neutrophile Infiltration der roten Pulpa bestand jedoch weiterhin. Auch die Leber war zu diesem späten Infektionszeitpunkt bereits frei von nekrotischen Veränderungen. Perivaskulär traten häufig polymorphkernige und mononukleäre Infiltrationen auf. In der Lunge war kein Exsudat mehr vorhanden. Es kam zur Infiltration der Alveolarwände mit Polymorphkernigen, welche auf eine interstitielle Pneumonie oder eine in

Rückbildung befindliche Pneumonie schließen ließ. Konstant frei von Veränderungen waren das Kolon, die Nieren und die PLN (CARTER, 1974; CARTER, 1976; CARTER und COLLINS, 1974).

HANSKI et al. (1989a) und GRÜTZKAU et al. (1990; 1993) infizierten ebenfalls CD-1 Mäuse auf oralem Weg bzw. injizierten die Bakterien in ligierte Darmschlingen und untersuchten die Veränderungen im Darm. Sie bestätigten die Ergebnisse von CARTER et al. (1975a; 1975b) konnten einige Veränderungen aber sogar schon eher durch früher gewählte Untersuchungszeitpunkte feststellen. Schon nach 19 Stunden p.i. (bei GRÜTZKAU et al. (1993) nach 12 Stunden p.i.) konnten Mikrokolonien unter dem intakten Epithel der PP angetroffen werden, wohingegen selten Bakterien in der L. propria der Zottenbasis auftraten. Es kam zur Proliferation der Erreger in den PP und zur Migration zu den germinalen Zentren und der umgebenden L. propria. 24 Stunden p.i. waren lokale Läsionen mit Muzin, Zelldebris, Leukozyten und Bakterien zu erkennen. Das restliche Epithel war ähnlich wie bei CARTER et al. (1975a) intakt (GRÜTZKAU et al., 1993). Schon nach drei Tagen p.i. war die gesamte PP kolonisiert und deren Architektur komplett zerstört. Die Bakterien waren umgeben von Polymorphkernigen. Phagozytose fand aber kaum statt (HANSKI et al., 1989a). Ähnliche Beobachtungen konnten GRÜTZKAU et al. (1993) nach 36 Stunden der Infektion machen. Hier waren das Follikel­epithel und die Basallamina komplett zerstört, während das benachbarte Zottenepithel unbeeinträchtigt war. Es traten weiterhin Ulzerationen ins Darmlumen auf.

#### C57BL/6

Als weiterer Mausstamm wurde vielfach C57BL/6 infiziert. AUTENRIETH et al. (1992; 1993a; 1993b; 1993c) konnten feststellen, dass in Reaktion auf eine i.v.-Yersinien-Infektion des Stammes C57BL/6 ähnlich wie bei den CD-1-Tieren die Organe Milz, Leber und z.T. auch die Lunge Veränderungen aufwiesen. Leber und Milz wiesen multiple, gut abgegrenzte Abszesse auf. Es traten eine Splenomegalie (follikuläre Hyperplasie) mit einer eitrigen Entzündung sowie eine Plasmazellhyperplasie und teilweise eine vollständige Zerstörung der Milz auf. In der histologischen Untersuchung konnten drei verschiedene Muster der entzündlichen Reaktionen beobachtet werden: Die Leber hatte in der frühen Infektionsphase kleine, nichteitrig, Granulom-ähnliche Läsionen mit mononukleären Zellen. Nekrosen waren nicht vorhanden. Als zweite entzündliche Reaktion wurden in den veränderten Organen Mikroabszesse aus Polymorphkernigen angetroffen, die keine scharfe Demarkation mit mononukleären Zellen zeigten. Bei der dritten, typischen Veränderung handelte es sich um große Abszesse, begrenzt durch mononukleäre Phagozyten und Lymphozyten mit einer zentralen Nekrose. Die drei Entzündungstypen traten in einem Organ auch parallel zueinander auf. Eine Demarkation der Läsionen war erst nach zehn Tagen p.i. zu erkennen. Yersinien konnten in den kleinen Granulom-ähnlichen Läsionen in der Leber nachgewiesen werden. Weiterhin wurden CD11b/18+ Zellen, CD4+ und CD8+ Lymphozyten in den *Yersinia*-induzierten Läsionen gefunden.

Bei der oralen Infektion der C57BL/6 Tiere kam es wie bei den CD-1 Tieren nach der Darminfektion zum Auftreten von Veränderungen in den MLN und schließlich nach 4 Tagen zur Streuung der Erreger in Milz, Leber und Lunge (CARTER und COLLINS, 1974). Die beobachteten Veränderungen ähnelten denen, die bei der oralen Infektion der CD-1 Tiere von CARTER beschrieben wurden. Am Tag 1 p.i. war die Entzündung und Gewebeerstörung der PP begrenzt auf den Bereich direkt unter dem Dom der PP und stand im Zusammenhang mit Yersinienkolonien. Granulom-ähnliche Läsionen traten noch nicht auf. Nach 3 Tagen waren

die PP mit neutrophilen Granulozyten und Makrophagen infiltriert und oft vollständig zerstört. In den MLN und der Milz waren zu diesem Zeitpunkt Granulom-ähnliche Formationen zu erkennen, wobei Entzündungszellen einen Ring um die Bakterienkolonie bildeten. Nach sieben Tagen war der Schweregrad der Veränderungen in den PP vergleichbar mit dem vom Tag 3 p.i. Nekrosen traten auf und in der Milz nahmen die Granulom-ähnlichen Läsionen zu (HANDLEY et al., 2004; DUBE et al., 2001). Immunhistologisch konnten in den Abszessen Polymorphkernige (MAC-1+, VLA-4-, ICAM-1-) und mononukleäre Zellen des Typs MAC-1+, VLA-4+ und ICAM-1+ nachgewiesen werden (AUTENRIETH et al., 1996).

#### BALB/c-Mäuse

Die BALB/c-Mäuse wurden neben den C57BL/6 im Zusammenhang mit *Yersinia*-Infektionen mit am häufigsten in Untersuchungen verwendet. Bei den in der Literatur als suszeptibel geltenden Tieren waren ebenfalls die Organe Milz, Leber und Lunge am meisten von Veränderungen betroffenen. Bei den Organgewichten und den histologischen Veränderungen konnten HANDLEY et al. (2004) sowie DUBE et al. (2001) nach einer oralen Infektion mit *Y. enterocolitica* keine Stammesunterschiede der untersuchten Mäuse feststellen. Die Veränderungen sahen wie oben beschrieben bei den C57BL/6-Tieren aus. AUTENRIETH und FIRSCHING (1996) konnten ebenfalls ähnliche histologische Veränderungen in oral infizierten BALB/c beobachten. Auch hier waren im Darm nur die PP und keine weiteren Strukturen betroffen. Zusätzlich stellten sie ödematös vergrößerte Zotten in der Nachbarschaft zu den PP fest. Bei PEPE et al. (1995) waren die Veränderungen auch auf die PP beschränkt, jedoch konnten zwei unterschiedliche Typen der histologischen Veränderungen festgestellt werden. Einerseits traten Entzündung und Nekrose auf. Dabei waren wenig begrenzte Mikroabszesse im lymphatischen Parenchym anzutreffen. Polymorphkernige sammelten sich dort an, und Zelltod und nekrotisches Gewebe waren in unmittelbarer Nachbarschaft zu erkennen. Mononukleäre Zellen bildeten ein Netzwerk. Andererseits traten auch rein entzündliche Veränderungen auf, die kaum begrenzt waren. Hier waren keine granulomatösen oder nekrotischen Veränderungen anzutreffen. Das Epithel blieb intakt. Die Bakterien befanden sich im Zentrum der Mikroabszesse, z.T. auch intrazellulär in der Peripherie der nekrotischen Bezirke.

#### 129/SV/j

In einigen Untersuchungen wurden 129/SV/j-Tiere verwendet. Die histologischen Veränderungen waren nach einer oralen Infektion vergleichbar mit denen von C57BL/6 und BALB/c (DUBE et al., 2001; HANDLEY et al., 2004).

#### C3H/HeN

Mäuse des Stammes C3H/HeN wurden in Beschreibungen der histologischen Veränderungen nach einer Infektion mit *Y. enterocolitica* in der Literatur bisher nicht erwähnt.

## 2.4.2 Vergleich der Mausstämme und der Faktoren für die unterschiedliche Empfänglichkeit während einer Yersinieninfektion

Einige Studien befassen sich direkt mit dem Vergleich verschiedener Mausstämme in der Reaktion auf eine *Y. enterocolitica*-Infektion. Darin werden zumeist bestimmte Faktoren näher untersucht, denen eine entscheidende Rolle in der Erregerabwehr und damit der unterschiedlichen Empfänglichkeit der Tiere auf die Yersinien zugesprochen wird. HANCOCK et al. (1986), beispielsweise, ordneten die verschiedenen Mausstämme anhand ihrer unterschiedlichen  $LD_{50}$  (dosis letalis media, letale Dosis für 50 % der Tiere) in resistent (C57BL/6), intermediär suszeptibel (BALB/cBy x C57BL/6 F1) und suszeptibel (BALB/cBy, SWR, DBA/2, C3H/HeN, Swiss, BALB.B, BALB/cBy x C57BL/6 F1 *nu/nu*) ein. BOHN et al. (1998a) wiesen nach, dass 129P<sub>2</sub>/OlaHsd-Mäuse intermediär sensitiv gegenüber einer Infektion mit *Y. enterocolitica* sind, während die Stämme C57BL/6 resistent und BALB/c empfänglich sind. In der Studie von HANDLEY et al. (2004) konnte ebenfalls festgestellt werden, dass BALB/c suszeptibler war als die Stämme 129X1/Svj und C57BL/6j. Der Unterschied war bei einer oralen Infektion jedoch weniger deutlich als bei einer intravenösen Infektion. 129X1/Svj wurde in seiner Empfänglichkeit zwischen BALB/cj und C57BL/6j eingestuft. In einem direkten Vergleich von HANCOCK et al. (1986) von BALB/c und C57BL/6 wurde BALB/c bei einer oralen Infektion ebenfalls als suszeptibler eingestuft als C57BL/6. Die BALB/c-Tiere wiesen eine höhere Mortalität und eine größere Bakterienzahl in den PP auf. Die Infektion konnte auf den Darm beschränkt gehalten werden. Die größere Immunität der C57BL/6-Tiere wird hier vom Autor angedeutet, da dieser Inzuchtstamm die Beseitigung des Erregers im Darm im Gegensatz zu BALB/c erreichte. Im Bakterienwachstum während einer i.v.-Infektion waren in den ersten 48 Stunden keine Stammesunterschiede deutlich. Danach erreichten die C57BL/6-Mäuse allerdings eine Restriktion der Infektion, während die BALB/c-Tiere ein extensives Wachstum der Bakterien in allen Organen zeigten. Auch dies zeugt von einer höheren Immunität der C57BL/6-Mäuse. In der Untersuchung der Veränderungen nach einer oralen Yersinieninfektion verschiedener Mausstämme konnten HANDLEY et al. (2004) keinen signifikanten Stammesunterschied in den Organgewichten und den histologischen Veränderungen feststellen.

Auf der Suche nach der Ursache der unterschiedlichen Empfindlichkeiten der Mausstämme gegenüber *Y. enterocolitica* konnten HANCOCK et al. (1986) ausschließen, dass der Ity-Lokus (kodiert die *Salmonella typhimurium*-Resistenz) und der H-2-Lokus (kodiert MHC-Klasse II-Moleküle) von Bedeutung sind. Ebenfalls spielen nach HANCOCK et al. (1986) für die Widerstandskraft der Mäuse die residenten Makrophagen in den PP, die Anhaftung der Bakterien an die ilealen PP oder die Mukosa und die initiale Mukosakolonisation keine Rolle. Dagegen wird für die unterschiedliche Suszeptibilität der diversen Mausstämme eine Yersinien-spezifische, Thymus-abhängige, erst später in der Infektion auftretende Antwort verantwortlich gemacht. Sie kommt bei einer oralen Infektion innerhalb der PP oder auf ihrer Oberfläche zum Tragen. In einer weiteren Studie konnten HANCOCK et al. (1988) feststellen, dass die unterschiedliche Suszeptibilität der untersuchten Mäuse in einer multigenetischen Resistenz begründet liegt. Es werden mindestens zwei autosomal dominante Gene vermutet, die die Stufen der erworbenen Immunität regulieren. Der Es-1-Lokus, der eine Esterase bisher noch unbekannter Funktion kodiert, konnte in allen rekombinanten, untersuchten, resistenten Mausstämmen einheitlich gefunden werden. In den Stämmen C57BL/6 und BALB/c existieren von diesem Gen unterschiedliche Allele. Es blieb jedoch

unklar, ob es sich bei dem gemeinsamen Auftreten des Es-1-Lokus in den resistenten Mausstämmen um Zufall handelte oder ob dieser Locus eine Rolle in der unterschiedlichen Suszeptibilität spielte. Es konnte keine Korrelation des Es-1-Lokus zu anderen in der Immunität wichtigen Loci gefunden werden (Igh, H-2). Zusammen mit dem Es-1-Lokus befinden sich noch weitere nicht-MHC-Gene auf dem Chromosom 8.

### T-Zell-abhängige Mechanismen

Für die Immunantwort gegen *Y. enterocolitica* werden auch von anderen Arbeitsgruppen T-Zell-abhängige Mechanismen verantwortlich gemacht. B-Zellen und Plasmazellen rücken dagegen in den Betrachtungen nicht in den Vordergrund. In der Untersuchung von HANDLEY et al. (2004) blieben die B-Lymphozyten während einer Yersinieninfektion in den PP als vorherrschender Zelltyp in ihrer Zellzahl konstant, während die Zahl in der Milz und den MLN bei allen untersuchten Mausstämmen anstieg. Plasmazellen finden nur in wenigen histologischen Beschreibungen der Yersinien-Infektionsmodelle Eingang in die Literatur (s.o.). Über die unterschiedliche Rekrutierung dieser Zellen in den verschiedenen Inzucht-Mausstämmen im Verlaufe der Yersinieninfektion wird jedoch nichts berichtet.

Die T-Lymphozyten bilden eine Vielzahl an Cytokinen, wie z.B. das IFN- $\gamma$ , innerhalb einer Infektantwort. Diese aktivieren unter anderem Makrophagen, welche durch die Phagozytose der Erreger und aufgrund der Bildung weiterer Cytokine eine essentielle Rolle in der Immunabwehr gegen *Y. enterocolitica* spielen. Eine wichtige Rolle der T-Zellen in der Infektabwehr konnte von AUTENRIETH et al. (1992) aufgezeigt werden. Nach einem Transfer von *Yersinia*-spezifischen T<sub>H</sub>1-T-Zellklonen nach einer *Y. enterocolitica*-Infektion konnten keine signifikanten histologischen Veränderungen beobachtet werden, wobei die Kontrolltiere ohne T-Lymphozyten-Transfer die oben beschriebenen Veränderungen ausbildeten. Da zudem Kontrolltiere deutlich resistenter auf eine Yersinieninfektion reagierten als athymische Tiere, gehen HANCOCK et al. (1986) davon aus, dass Thymus-vermittelte Mechanismen zur Resistenz beitragen. Ähnliches beobachteten AUTENRIETH et al. (1993b; 1993c). Der Stamm C57BL/6 reagierte auf eine Infektion mit *Y. enterocolitica* relativ resistent. In diesem Zusammenhang sprechen die Autoren jeweils von Resistenz und nicht von Immunität, obwohl es sich hier eher um die Immunantwort im Verlaufe der Infektion als um eine angeborene zu Beginn der Infektion erkennbare Resistenz handelt. Bei den Versuchen von AUTENRIETH et al. (1993b; 1993c) trat bei C57BL/6-Tieren eine Entzündung innerhalb von drei Tagen p.i. auf. Die Infektion konnte aber innerhalb von sieben Tagen p.i. beseitigt werden. C57BL/6-Tiere ohne Thymus machten dagegen eine fulminante, tödliche Infektion durch. Die Veränderungen der Milz und Leber fielen in ihrem Ausmaß stärker aus als bei den Tieren mit Thymus. Milz und Leber wiesen große, multifokale, eitrig-fokale und multiple Makro- und Mikroabszesse auf. Die Milz war fast vollständig zerstört. Die Tiere bildeten wenig granulomatöse Antworten auf die Infektion aus. Es herrschten wenig demarkierte, eitrig-fokale Läsionen vor.

Die Bildung einer schnellen, initialen, *Yersinia*-spezifischen T<sub>H</sub>1-Antwort ist nach BOHN und AUTENRIETH (1996) und AUTENRIETH et al. (1994) ausschlaggebend für die effektive Beantwortung der Infektion. HANDLEY et al. (2004) wiesen nach, dass der pro-inflammatorische T<sub>H</sub>1-Phänotyp in einer Wirtsabwehr gegen *Y. enterocolitica* vorherrscht. C57BL/6 gelingt die Bildung dieser Antwort im Vergleich zu BALB/c schneller, wodurch die



unterschiedliche Resistenz u.a. begründet wird (BOHN und AUTENRIETH, 1996; AUTENRIETH et al., 1994). An dieser Stelle verwenden die verschiedenen Autoren den Begriff Resistenz. Die unterschiedliche Immunität der Mausstämmen wird nicht herausgestellt.

Des Weiteren rufen die unterschiedlichen T-Zell-Typen in den diversen Mausstämmen verschiedene immunologische Reaktionen hervor. CD4+ Lymphozyten führen bei C57BL/6 zur Beseitigung der Infektion durch die Vermittlung einer zellulären Wirtsantwort. Bei BALB/c kommt es dagegen zur Verschlimmerung. Beispielsweise bilden die CD4+ Zellen IL-4, das die Abwehr der BALB/c-Mäuse hemmt. Für die BALB/c-Tiere sind die CD8+ und NK-Zellen wichtig für die Beseitigung der Infektion. Sie werden aktiviert durch IL-12, durch CD4+ Zellen jedoch inhibiert. Weiterhin wird über die CD4+ Zellen die iNOS der Makrophagen gehemmt, wodurch eine höhere Suszeptibilität der BALB/c-Tiere begründet wird (BOHN et al., 1998a). Im Vergleich besitzen die Stämme BALB/c und 129X1/Svj mehr CD4+ als CD8+ Zellen. Bei C57BL/6 ist es umgekehrt (HANDLEY et al., 2004). In den Läsionen wurden bei den unterschiedlichen Stämmen unterschiedliche Zelltypen angetroffen. Bei den C57BL/6-Mäusen traten zunächst CD11b/18+ Zellen auf, später akkumulierten die CD8+ Zellen. Bei den BALB/c-Tieren wurden zu Beginn CD4+ Zellen in den Granulom-ähnlichen Läsionen gefunden, später traten nur wenige CD8+ Zellen auf (AUTENRIETH et al., 1993b). Weiterhin sind in der Milz der C57BL/6- und BALB/cj-Mäuse im Verlaufe einer Infektion mehr T-Zellen aktiviert als bei 129X1/Svj (BOHN et al., 1998a). HANDLEY et al. (2004) vermuten aufgrund der T<sub>H</sub>1-Cytokin-Spiegel eine verspätete Milz-T-Zell-Aktivierung bei BALB/c im Vergleich zu C57BL/6.

### Makrophagen und andere Phagozyten

Die neben den T-Lymphozyten essentiellen Makrophagen und anderen Phagozyten in der Abwehr einer Yersinieninfektion werden in den unterschiedlichen Mausstämmen unterschiedlich schnell rekrutiert. In der Studie von AUTENRIETH et al. (1994) korrelierte die Rekrutierung von CD11b/18+ und NK-Zellen mit einer Splenomegalie. C57BL/6-Tiere zeigten eine signifikante proliferative Antwort der Milz, BALB/c-Tiere dagegen nicht. Letztere wiesen eine verspätete Rekrutierung der vermutlichen Effektorzellen, den Phagozyten, auf. Ähnliche Beobachtungen machten BOHN et al. (1994) bei BALB/c in Bezug auf die Rekrutierung und den Influx inflammatorischer Zellen in die Leber. In der Studie von HANDLEY et al. (2004) wurden die unterschiedlichen Phagozyten differenziert betrachtet. Die Granulozytenzahl stieg im Verlaufe der Infektion an. In den PP wiesen die C57BL/6-Tiere von Tag 1-7 p.i. im Vergleich der verschiedenen Inzucht-Mausstämmen die meisten Granulozyten auf. Danach folgte 129X1/Svj und dann erst BALB/cj. Am Tag 7 p.i. besaß 129/Svj die wenigsten Granulozyten. In den MLN konnten insgesamt weniger Granulozyten gefunden werden als in den PP. Innerhalb der Milz konnte eine dreifache Zunahme der Granulozytenzahl beobachtet werden, wohingegen diejenige der Stämme BALB/c und 129X1/Svj ähnlich blieb. Auch die Zahl der Makrophagen stieg bei allen untersuchten Mausstämmen an. Die BALB/c-Tiere wiesen in den Organen MLN, PP und Milz jedoch die höchsten Werte auf (MLN: BALB/cj > 129X1/Svj > C57BL/6j; PP: BALB/cj > C57BL/6j > 129X1/Svj; Milz: BALB/cj > (129X1/Svj > C57BL/6j)). Der Anteil der NK-Zellen an der Zellpopulation in den untersuchten Organen machte bei allen Mausstämmen dauerhaft einen Anteil von 1-3 % aus (HANDLEY et al., 2004).

HANSKI et al. (1991) konnten nachweisen, dass das Komplement im Gegensatz zur Phagozytose nicht essentiell in der Beseitigung nichtpathogener Yersinien ist. Die Elimination der Erreger geschieht durch phagozytotische Zellen im Darmgewebe (Granulozyten und Makrophagen), die zwar nur 0,1-0,2 % der kernhaltigen Zellen in den PP ausmachen, aber ausreichen, um apathogene Yersinien zu beseitigen. Im Falle der Infektion mit pathogenen Yersinien ist zur Beseitigung ein Influx weiterer Makrophagen notwendig.

### IFN- $\gamma$

Als essentielles Cytokin in der Abwehr einer Yersinieninfektion gilt das IFN- $\gamma$ . Es wird in der frühen Phase der Infektion in NK-Zellen, später vor allem in T-Lymphozyten (den CD4+ T<sub>H</sub>1-Lymphozyten und den CD8+ Lymphozyten) gebildet (AUTENRIETH et al., 1993c; AUTENRIETH et al., 1992). Das IFN- $\gamma$  sorgt für eine Makrophagenaktivierung und damit für die Eliminierung der Erreger über die Phagozytose. An der Makrophagenrekrutierung ist IFN- $\gamma$  nicht beteiligt (AUTENRIETH et al., 1996). AUTENRIETH et al. (1994) und BOHN et al. (1994) wiesen nach, dass die frühen, zwei- bis achtfach höheren IFN- $\gamma$ -Spiegel von C57BL/6 im Vergleich zu BALB/c in direkter Beziehung zur höheren Resistenz von C57BL/6 gegenüber *Y. enterocolitica* stehen. C57BL/6 bildete schneller eine T<sub>H</sub>1-Antwort aus, wohingegen die BALB/c-Tiere erst nach 21 Tagen p.i. messbare IFN- $\gamma$ -Spiegel aufwiesen und eher eine T<sub>H</sub>2-Antwort ausbildeten. Die höhere Suszeptibilität der BALB/c-Mäuse vermuten AUTENRIETH et al. (1994) jedoch in einer vermindert ausgeprägten T<sub>H</sub>1-Antwort als in einer verstärkten T<sub>H</sub>2-Antwort. In Bezug auf die effektive Abwehr der Erreger durch die Bildung von IFN- $\gamma$  wird von den oben genannten Autoren erneut ausschließlich der Begriff Resistenz verwendet, obwohl es sich zu späteren Untersuchungszeitpunkten der jeweiligen Studien eher um eine unterschiedliche Immunität der verschiedenen Mausstämme handelt. HANDLEY et al. (2004) untersuchten die IFN- $\gamma$ -Spiegel in den Organen PP, MLN und Milz. In den PP traten nach einer Yersinieninfektion insgesamt die höchsten Werte auf. C57BL/6 wies im Gegensatz zu Ergebnissen anderer Studien (s.o.) im Stammvergleich mit BALB/c und 129X1/Svj niedrigere Werte auf. In den MLN waren die Werte der untersuchten Mausstämme vergleichbar, jedoch niedriger als in den PP. In der Milz stiegen die Werte im Verlaufe der Infektion bis zum Tag 3 p.i. bei allen Mausstämmen an. Die 129X1/Svj-Mäuse zeigten am Tag 7 p.i. noch höhere Werte als an Tag 3 p.i. Bei den Stämmen C57BL/6j und BALB/c war der IFN- $\gamma$ -Spiegel jedoch am Tag 7 p.i. wieder gesunken.

Die IFN- $\gamma$ -Bildung kann durch eine Reihe von Faktoren wie z.B. den Cytokinen IL-12, IL-18 und IL-2, dem IFN consensus sequence binding protein (ICSBP), aber auch von bakteriellen Virulenzfaktoren beeinflusst werden. Sie werden nachfolgend näher beschrieben.

YopB als bakterieller Virulenzfaktor hemmt T- und NK-Zellen in ihrer IFN- $\gamma$ -Produktion, wodurch die Bildung von TNF- $\alpha$  reduziert wird (BEUSCHER et al., 1995). Das LcrV wirkt auf CD-14- und TLR2-abhängige Weise immunmodulatorisch durch die Unterdrückung des IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  und durch die Amplifikation von IL-10 (SING et al., 2002b). Der Effekt der TNF- $\alpha$ -Unterdrückung kann durch eine Anti-IL-10-Antikörper-Gabe aufgehoben werden. Genauso sind IL-10-K.O.-Mäuse hoch resistent gegenüber *Y. enterocolitica* (SING et al., 2002a). TLR4 spielt für die Wirkung von LcrV keine bedeutende Rolle. Die Yersinien bewirken über TLR2 in C57BL/6 eine Förderung der Infektion, d.h. bei einer TLR2-Defizienz sind C57BL/6-Tiere resistenter. Bei C3H führt eine TLR2-Defizienz dagegen zu erhöhter Suszeptibilität. Die TLR haben damit bei unterschiedlichen genetischen Hintergründen der

Mausstämme einen divergenten Einfluss auf den Infektionsausbruch bei der Maus (SING et al, 2003).

Eine weitere Beeinflussung der IFN- $\gamma$ -Produktion durch eine direkte Induktion der Cytokinbildung wird durch das in Makrophagen gebildete IL-12 erreicht. BALB/c und C57BL/6 haben nach einer i.v.-Infektion vergleichbare Mengen an IL-12 mRNA und IL-12. Es ist noch unklar, ob C57BL/6 höhere Mengen an IFN- $\gamma$  produziert, weil dieser Stamm mehr funktionales IL-12 bildet als BALB/c oder, ob eine Antwort auf IL-12 von C57BL/6 effizienter ist aufgrund anderer IL-12-Rezeptoren. Eine weitere Möglichkeit in der unterschiedlichen Bildung von IFN- $\gamma$  liegt in der unterschiedlichen Bildungsmenge an antagonistischen Cytokinen, wie z.B. IL-10. Während diese Effekte in i.v.-Infektionen beobachtet werden konnten, scheint IL-12 in oralen Infektionen mit *Y. enterocolitica* eine weniger wichtige Rolle in der Abwehr in den PP zu spielen, da IL-12 mRNA in den PP nicht signifikant exprimiert wird (BOHN und AUTENRIETH, 1996; AUTENRIETH et al., 1996). Eine Gabe von exogenem IL-12 nach einer Infektion mit *Y. enterocolitica* hatte in der Studie von BOHN et al. (1998a) bei den verschiedenen Mausstämmen unterschiedliche Auswirkungen. Bei C57BL/6 wurde der toxische Effekt von TNF- $\alpha$  durch IL-12 verstärkt. BALB/c konnte mit der IL-12-Gabe IFN- $\gamma$ -Rezeptor-vermittelt Schutz vor einer Infektion verliehen werden. Für die Balance der IL-12-induzierten Toxizität vermittelt durch TNF- $\alpha$  und dem induzierten Schutz vermittelt durch IFN- $\gamma$  spielt das TGF- $\beta$  bei C57BL/6 eine bedeutende Rolle. Es verbessert in Kombination mit IL-12 die Resistenz, verringert die toxischen Effekte und führt bei diesem Inzuchtstamm zur Bakterienreduktion. BOHN et al. (1998a) vermuten in BALB/c-Tieren eine höhere Expression des TGF- $\beta$  als in C57BL/6-Tieren, wodurch eine geringere Menge der iNOS in den BALB/c-Makrophagen auftritt.

IL-18 wirkt synergistisch zu IL-12. Es bewirkt eine IFN- $\gamma$ -Produktion in Makrophagen, woraufhin diese IL-12 bilden, das synergistisch zu IL-18 eine IFN- $\gamma$ -Bildung induziert. Weiterhin werden durch IL-18 die T-Zell-Proliferation und die NK-Zell-Aktivität stimuliert. C57BL/6 besitzt mehr reifes IL-18 durch viermal höhere Level der IL-18 mRNA und eine effizientere Amplifikationskaskade in der Produktion der proinflammatorischen Cytokine. Insgesamt sind das IL-12 und das IL-18 der C57BL/6-Mäuse effizienter, welches in der Bildung der zehnfachen Menge an IFN- $\gamma$  resultiert (BOHN et al., 1998b).

IL-2 spielt eine Rolle in einer erneuten Infektion mit *Y. enterocolitica* (BOHN et al, 1994). Es wirkt synergistisch zu IL-12 und IL-18 und führt so zu einem Anstieg des IFN- $\gamma$ -Spiegels (BOHN et al., 1998b).

Das IFN consensus sequence binding protein (ICSBP) spielt u.a. eine Rolle in der Induktion der T<sub>H</sub>1-Antwort und trägt so zum Schutz vor Infektionen bei. Es gehört zu der IFN-Regulationsfaktor (IFR)-Familie der Transkriptionsfaktoren der Säugetiere. Diese Moleküle binden an IFN-stimulierte Antwort-Elemente (ISRE) und kontrollieren die Transkription von Genen innerhalb der Promoterregion. Beispielsweise wird durch das ICSBP die Gentranskription des IL-12 p40 aktiviert. Es handelt sich hier um eine Untereinheit des IL-12-Heterodimers, das aus den Untereinheiten IL-12 p40 und IL-12 p35 besteht. Weiterhin ist das ICSBP wichtig im Signaltransduktionsweg vom IFN- $\gamma$ -Rezeptor zur Genexpression von IL-12 p40. Bei einem ICSBP-K.O. dagegen war der oxidative Burst verspätet und reduziert, und in Makrophagen war die intrazelluläre Abtötung von Mikroorganismen gestört. Eine gestörte IL-12 p40-Induktion führte zu einer verminderten IL-12-Bildung nach der Infektion, so dass auf eine fehlende IFN- $\gamma$ -Induktion eine fehlende T<sub>H</sub>1-Helfer-Antwort folgte. Auch IL-4 war

erniedrigt. Zudem war die Granulombildung gestört. Es wurden multiple, extensive, protrahierte, nekrotische Abszesse in den betroffenen Organen gebildet, in denen keine MAC-1+ Zellen nachgewiesen werden konnten. Im Falle von *Y. enterocolitica* wird vermutet, dass YopM das ICSBP blockt oder den Signaltransduktionsweg unterbricht, der die Induktion und Aktivierung von Transduktionsfaktoren der IRE-Familie reguliert (HEIN et al., 2000).

### TNF- $\alpha$

Das neben IFN- $\gamma$  wohl wichtigste Cytokin in der Immunantwort auf eine *Y. enterocolitica*-Infektion ist TNF- $\alpha$ . Es wird in Makrophagen gebildet und führt neben IFN- $\gamma$  ebenfalls zur Makrophagenaktivierung. An der Makrophagenrekrutierung in die Infektionsorte ist es nicht beteiligt (AUTENRIETH et al., 1992; AUTENRIETH et al., 1996).

BOHN et al. (1994) stellten im Vergleich der Mausstämme BALB/c und C57BL/6 fest, dass neben IL-10, IFN- $\gamma$  und IL-1 $\beta$  auch TNF- $\alpha$  bei C57BL/6 höher exprimiert war als bei BALB/c. BOHN et al. (1998a) wiesen außerdem nach, dass die IL-12-vermittelte Toxizität durch TNF- $\alpha$  begründet ist. C57BL/6 triggerte nach einer IL-12-Gabe die TNF- $\alpha$ -Bildung, wodurch es zu einer Verschlimmerung der Infektion und zu toxischen Effekten aufgrund des hohen TNF- $\alpha$ -Levels kam. Bei BALB/c führte die IL-12-Gabe dagegen zum Schutz vor der Infektion. HANDLEY et al. (2004) infizierten verschiedene Mausstämme und verglichen die TNF- $\alpha$ -Werte. Innerhalb des ersten Infektionstages war kein Anstieg des TNF- $\alpha$  in den PP zu sehen. Vom dritten bis siebten Tag stiegen die Werte bei BALB/c an, bei C57BL/6j und 129X1/Svj sanken sie. In den MLN und der Milz konnten bei allen Stämmen innerhalb der ersten drei Infektionstage steigende TNF- $\alpha$ -Level beobachtet werden. Am Tag 7 p.i. wies 129X1/Svj höhere Spiegel auf als C57BL/6j und BALB/cj.

Die Bildung des TNF- $\alpha$  kann ähnlich wie bei IFN- $\gamma$  durch verschiedene Faktoren moduliert werden. Dazu gehören sowohl bakterielle Faktoren als auch Cytokine. Weiterhin spielt das TNF-Rezeptor Protein 55 (TNFR p55) in der Übermittlung der biologischen Aktivität von TNF- $\alpha$  eine Rolle. Im Folgenden wird auf diese Faktoren intensiver eingegangen.

YopB ist in der Lage direkt durch die Unterdrückung der Bildung von TNF- $\alpha$  mRNA oder indirekt durch negative Beeinflussung von T- und NK-Zellen in der IFN- $\gamma$ -Bildung die TNF- $\alpha$ -Bildung zu supprimieren. Eine anti-TNF- $\alpha$ -Antikörper-Gabe nach einer Yersinieninfektion führte zu einer gestörten Granulombildung und einer massiven Proliferation der Bakterien (BEUSCHER et al., 1995). Weiterhin kann LcrV wie oben beschrieben TNF- $\alpha$  supprimieren (SING et al., 2002a; SING et al., 2002b).

Die TNF-vermittelte mikrobizidale Makrophagenaktivität spielt in der Yersinienabwehr eine zentrale Rolle. Übermittelt wird die biologische Aktivität von TNF- $\alpha$  von dem TNF-Rezeptor Protein 55 (TNFR p55). Dieses Protein stellt einen von zwei Rezeptoren für TNF dar. Durch Bindung an diesen Rezeptor werden Makrophagen aktiviert, Adhäsionsmoleküle hochreguliert und eine Zytotoxizität über Nekrose und Apoptose erreicht. TNFR p55 ist allerdings nicht nur wichtig für die Resistenz gegenüber Yersinien, sondern kann in einer i.v.-Infektion durch die Behinderung der Cytokinbildung über T-Zellen die frühe Abwehr stören. Makrophagen sind bei einer TNFR p55-Defizienz in der frühen Phase der Infektion nicht beeinträchtigt. Eine Gewebestörung ist allerdings geringer, die Bakterien können besser be-

seitigt werden, IL-10 ist erniedrigt, und es liegt ein erhöhter IFN- $\gamma$ -Spiegel vor. Die CD4+ Zellen treten in der Milz vermehrt auf (ZHAO et al., 2000).

### IL-6

IL-6 ist an der Schutzfunktion der Mäuse vor Infektionen beteiligt, indem es die pro- und anti-inflammatorischen Cytokine moduliert und ausbalanciert. IL-6 hemmt die Differenzierung der CD4+ Zellen zum T<sub>H</sub>1-Phänotyp, womit es beim K.O. zu einer verstärkten CD4+ Zell-Differenzierung und damit zu einer erhöhten IFN- $\gamma$ -Bildung kommt. Weiterhin vermittelt es im Wildtyp-Tier zusammen mit dem IL-6-Rezeptor den Wechsel der neutrophilen Entzündung zur monozytären Antwort. DUBE et al. (2004) infizierten IL-6-K.O.-Mäuse mit C57BL/6-Hintergrund. Es kam zu einer stärkeren Streuung der Bakterien und zu einer höheren Bakterienzahl in den Organen. Die betroffenen Organe wiesen außerdem stärkere, entzündliche Veränderungen auf als die der Wildtyp-Tiere. Sie traten früher und häufiger auf und waren zu Beginn rein neutrophil ohne Makrophagen. Später traten Zelldebris und auch Makrophagen und Lymphozyten auf. Der neutrophile Charakter herrschte aber weiterhin vor. Es wurden bei den Knock-out-Tieren höhere IFN- $\gamma$ -Spiegel und niedrigere TGF- $\beta$ -Spiegel gemessen als bei den Wildtyp-Tieren, womit die hyperinflammatorische Antwort der IL-6-defizienten Tiere begründet wurde. Weiterhin waren TNF- $\alpha$ , IL-10 und MCP-1 erhöht.

### IL-1

Bei IL-1 handelt es sich um ein proinflammatorisches Cytokin, das in zwei Formen auftritt: IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . Sie binden an den gleichen Rezeptor und costimulieren T-Zellen, führen zur Anorexie, zu Fieber und zur Induktion der Akute-Phase-Reaktion. In den PP bewirken sie eine Entzündungsreaktion, die bei einem Defekt von IL-1 $\alpha$  nicht durch IL- $\beta$ , IFN- $\gamma$  oder TNF- $\alpha$  kompensiert werden kann. Die Expression ist in Anwesenheit von Yersinien abhängig vom rovA-Gen der Bakterien. Es wird von den Bakterien für frühe Ereignisse der Infektion benötigt und tritt in den PP in Form einer Entzündung in Erscheinung. Zwischen verschiedenen Mausstämmen konnte bei einer Infektion mit einer rovA-Yersinien-Mutante kein Unterschied in der Cytokinproduktion festgestellt werden (DUBE et al., 2001; DUBE et al., 2003).

### IL-10

IL-10 besitzt eine immunsupprimierende Wirkung innerhalb einer Infektion. Es führt zu einer verminderten Bildung von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ . Induziert werden kann es über das LcrV der Yersinien (SING et al., 2002b) und über IL-12 (BOHN und AUTENRIETH, 1996). Neben TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  wird es in einer Infektion relativ schnell gebildet. Dabei treten höhere TNF- $\alpha$ -, IFN- $\gamma$ - und IL-10-Werte bei C57BL/6 auf als bei BALB/c. Für BOHN et al. (1994) stehen die IFN- $\gamma$ -Menge und die Geschwindigkeit der Rekrutierung der Effektorzellen in direktem Zusammenhang mit der Resistenz gegenüber *Y. enterocolitica*. In diesem Zusammenhang spricht BOHN von der Resistenz und nicht von dem Begriff Immunität, da es sich um die frühen Ereignisse der Immunantwort während einer Yersinieninfektion handelt. Bei einem IL-6-K.O. treten u.a. erhöhte IL-10-Werte auf (DUBE et al., 2004). Dagegen ist IL-10 erniedrigt bei einem TNFR p55-K.O. (ZHAO et al., 2000).

## IL-4

Das IL-4 wird der T<sub>H</sub>2-Antwort zugeordnet. Gebildet wird es in CD4+-T-Zellen. Es führt im Gegensatz zu IFN- $\gamma$  eher zu einer Progression einer Infektion (BOHN et al., 1994). AUTENRIETH et al. (1994) stellten fest, dass BALB/c eher eine T<sub>H</sub>2-Immunantwort auf eine Infektion mit *Y. enterocolitica* ausbildete als C57BL/6. Die Gabe von Anti-IL-4-Antikörpern verlieh den BALB/c-Tieren sogar Resistenz, während sie bei den C57BL/6-Mäusen keine Wirkung zeigte. Ähnliche Beobachtungen machten BOHN et al. (1994). Sie schlossen aus dem erhöhten IL-4-Spiegel der BALB/c-Tiere auf eine höhere Empfänglichkeit dieses Inzucht-Mausstammes. Bei HANDLEY et al. (2004) lagen die Cytokine IL-4 und IL-5 jedoch in den verschiedenen untersuchten Mausstämmen einheitlich unter dem messbaren Grenzwert.

## Integrine, Adhäsionsmoleküle

Für Leukozyten ist das Integrin LFA-1 (CD11a/18) von großer Bedeutung für die Extravasation. Es wechselwirkt mit dem Adhäsionsmolekül ICAM-1, dessen Expression durch TNF- $\alpha$  gefördert wird, so dass es zur festen Bindung der Leukozyten an das Endothel kommt und die Entzündungszellen im nächsten Schritt aus den Gefäßen in die Entzündungsgebiete gelangen (JANEWAY, 2002b). Bei den C57BL/6-Tieren wurde das LFA-1 innerhalb der Yersinieninfektion schneller erhöht exprimiert als bei BALB/c (AUTENRIETH et al., 1994). In den *Yersinia*-induzierten Läsionen konnte weiterhin das Adhäsionsmolekül ICAM-1 auf mononukleären Zellen nachgewiesen werden. Diese MAC-1+, VLA-4+ und ICAM-1+ Zellen befanden sich vermehrt in den Abszessen von Yersinien-infizierten C57BL/6-Tieren. Bei der oralen Infektion konnten des Weiteren vermehrt MAdCAM-1+ Zellen nachgewiesen werden. Außerdem konnte die Bildung von MAdCAM-1+ Venolen in den PP und MLN beobachtet werden, welches möglicherweise eine Rolle in der Rekrutierung von IFN- $\gamma$ -produzierenden Zellen spielt (AUTENRIETH et al., 1996). Außerhalb von Infektionen konnte festgestellt werden, dass C57BL/6 und BALB/c gleiche Level des Moleküls VCAM-1 aufweisen (BERLIN-RUFENACH et al., 1999). Ein Stammvergleich unter Infektionsbedingungen wurde in diesem Zusammenhang nicht durchgeführt. VCAM-1 und ICAM-1 werden durch TNF- $\alpha$  während einer Entzündungsreaktion vermehrt auf den Oberflächen der Endothelzellen exprimiert (PELED et al., 2000). Während das Adhäsionsmolekül MAdCAM-1 in inflammatorischen Foci zwar vermehrt exprimiert wird (BRISKIN et al., 1997), ist jedoch unter Infektionsbedingungen in mukosalen Gebieten eher VCAM-1 mit dem  $\alpha$ 4 $\beta$ 1-Integrin very late activation antigen (VLA)-4 als Ligand auf den Lymphozyten von Bedeutung (BERLIN-RUFENACH et al., 1999; JANEWAY, 2002e). Die Integrine VLA-4 und MAC-1 sind beteiligt an der Phagozytose und der T-Zell-spezifischen Antwort. Sie sind jedoch eher in die Zell-Zell-Kontakte und die Zell-Pathogen-Kontakte involviert als in der Makrophagenrekrutierung (AUTENRIETH et al., 1996).

### 2.4.3 Zusammenfassung der Literaturangaben über Mausinfektionsmodelle für *Y. enterocolitica*

Mit Hilfe der zahlreichen, oben beschriebenen Mausinfektionsmodelle mit *Y. enterocolitica* wurden immer detailliertere Erkenntnisse sowohl über die Yersiniose als auch über die Eigenschaften des Erregers selbst und seine bei einer Infektion hervorgerufene Immunantwort in den verschiedenen Mausstämmen gewonnen. Das zuerst von CARTER et al. (1975a; 1975b) etablierte Modell wurde aufgrund der jeweiligen Untersuchungsziele immer mehr verfeinert, erweitert und modifiziert. Verwendet wurden, im Gegensatz zu der vorliegenden Studie, zumeist hochpathogene Yersinienstämme. Je nach Infektionsart konnten in den unterschiedlichen Studien der verschiedenen Arbeitsgruppen die gleichen von der Infektion betroffenen Organe beobachtet werden. Bei einer i.v.-Infektion waren es Milz, Leber und Lunge. Wurden die Tiere oral infiziert, waren zunächst nur die PP und nicht das restliche Darmgewebe verändert. Bei den pathogenen Yersinienstämmen kam es nachfolgend zur Streuung in die MLN und schließlich zur systemischen Streuung mit ähnlicher Organbeteiligung wie bei einer i.v.-Infektion. In der vorliegenden Arbeit trat eine systemische Infektion aufgrund der Verwendung eines wenig pathogenen Yersinienstammes (siehe Kapitel 3.2.2, Seite 72) nicht auf, so dass der Focus der Untersuchung hier auf die initiale immunologische, histologisch erkennbare Reaktion im aboralen Drittel des Dünndarmes gerichtet wurde. Aufgrund des unterschiedlichen genetischen Hintergrundes wurde in der vorliegenden Studie vermutet, dass bei den verschiedenen Mausstämmen abweichende histologische Veränderungen festzustellen seien. Dies konnte in früheren Arbeiten nicht nachgewiesen werden. In der bisherigen Literatur werden für die verschiedenen untersuchten Mausstämme einheitlich folgende histologische Veränderungen beschrieben: Zu Beginn der Infektion traten in den PP Entzündungszellinfiltrate auf, die vor allem aus neutrophilen Granulozyten und anderen Phagozyten bestanden. Das Epithel war zunächst intakt. Unter der Kuppel der PP konnten bereits Yersinien lokalisiert werden. Im Verlaufe der Infektion bildeten sich Abszesse, die zentral nekrotisches, eosinophiles Material und Zelldebris aufwiesen und z.T. die gesamte Struktur der PP zerstörten. Weiterhin konnten Ulzerationen ins Darmlumen beobachtet werden. Eine Demarkation mit Makrophagen und die Bildung Granulom-ähnlicher Strukturen fanden erst mehrere Tage nach der Infektion statt.

Im Vergleich der verschiedenen Inzucht-Mausstämme konnten in der bislang veröffentlichten Literatur die C57BL/6-Tiere als resistent, der Stamm 129 als intermediär suszeptibel und die BALB/c-Mäuse als suszeptibel eingeordnet werden. Der Stamm C3H wurde bislang in der Literatur der Yersinien-Infektionsmodelle in Bezug auf seine Suszeptibilität gegenüber *Y. enterocolitica* nur von HANCOCK et al. (1986) im Vergleich zu anderen Inzuchtstämmen näher beschrieben. C3H/HeN wurde in der Beurteilung der LD<sub>50</sub> als intermediär suszeptibel eingestuft. In Bezug auf die unterschiedliche Immunität stellt HANCOCK et al. (1986) eine höhere Immunität bei C57BL/6-Tieren fest als bei BALB/c-Mäusen, da Letztere keine Beseitigung des Erregers aus dem Darm erreichen und bei einer i.v.-Infektion nach 48 Stunden keine Restriktion der Infektion auf den Darm gelingt. Stattdessen erfolgt ein extensives Wachstum in den Organen.

Für die unterschiedliche Empfänglichkeit der verschiedenen Mausstämme wird eine Vielzahl von Faktoren verantwortlich gemacht. Es konnte nachgewiesen werden, dass es sich bei der Yersinien-Resistenz um eine multigenetische Resistenz handelt. Die Loci Ity und H2 konnten ausgeschlossen werden. Der Es-1Lokus wird in seiner Resistenzbedeutung noch diskutiert.

Dagegen wird den T-Zell-abhängigen Mechanismen eine essentielle Rolle zugesprochen. Als ausschlaggebend für eine erfolgreiche Abwehr einer Yersinieninfektion wird die Fähigkeit einer schnellen und effektiven Bildung einer T<sub>H</sub>1-Immunantwort angesehen. C57BL/6 baut diese schneller auf als BALB/c. Dazu gehören unter anderem die Cytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ , die beide bei den C57BL/6-Tieren in höheren Mengen und schon zu früheren Zeitpunkten als bei BALB/c im Verlaufe einer Yersinieninfektion nachgewiesen werden können. Auch die Rekrutierung der Makrophagen erfolgt bei C57BL/6 schneller. Diese sind essentiell für die Phagozytose und die anschließende Beseitigung der Erreger sowie für die Produktion von z.B. TNF- $\alpha$ . Die verminderte Mikrobizidie der BALB/c-Makrophagen wird in der hemmenden Wirkung der CD4+ Lymphozyten und dem Cytokin TGF- $\beta$  auf die iNOS vermutet. BALB/c weist eine höhere Zahl an CD4+ Lymphozyten auf als C57BL/6, bei denen die CD8+ Lymphozyten überwiegen.

Die T<sub>H</sub>1-Antwort und damit vor allem die Cytokine IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  können durch zahlreiche Faktoren beeinflusst werden, so dass es zu einem fördernden oder hemmenden Einfluss auf die Immunantwort der Mäuse auf die Yersinien kommt. Bakterielle Faktoren wie YopB und LcrV können die Bildung von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  direkt oder indirekt hemmen. IL-12 fördert die IFN- $\gamma$ -Produktion. Es spielt bei der oralen Infektion jedoch keine wichtige Rolle. In der i.v.-Infektion konnten bei C57BL/6 und BALB/c gleiche IL-12-Mengen gemessen werden. IL-18 wirkt synergistisch zu IL-12. Ebenso wirkt IL-2 synergistisch zu IL-12 und IL-18, ist aber eher in einer Zweitinfektion mit Yersinien von Bedeutung. Das ICSPB ist wichtig für die Induktion der T<sub>H</sub>1-Antwort, indem es über den IFN- $\gamma$ -Rezeptor die IL-12 p40- und IL-12-Bildung vermittelt und zu einer Erhöhung des oxidativen Burst und der besseren intrazellulären Abtötung der Erreger führt.

Die Menge des gebildeten TNF- $\alpha$  hängt u.a. von der vorhandenen Menge des IFN- $\gamma$  ab, das zur Aktivierung der Makrophagen notwendig ist. Weiterhin spielt der TNFR p55 eine Rolle für die Wirkung des gebildeten TNF- $\alpha$ , da er die biologische Aktivität übermittelt.

Die Cytokine IL-1, IL-4, IL-6 und IL-10 modulieren die Immunantwort. Es wird daher auch diskutiert, ob sie in der unterschiedlichen Resistenz der Stämme gegenüber *Y. enterocolitica* eine Rolle spielen. IL-4 ruft vor allem eine T<sub>H</sub>2-Antwort hervor. In verschiedenen Studien wurden abweichende Aussagen zu den gemessenen IL-4-Spiegeln gemacht. Einerseits konnten höhere Werte bei BALB/c als bei C57BL/6 gemessen werden. Andererseits stellte eine andere Arbeitsgruppe gleiche IL-4-Spiegel bei den verschiedenen Mausstämmen fest. Auch für das proinflammatorische IL-1 konnten keine Stammesunterschiede in der Cytokinbildung nach einer Yersinieninfektion beobachtet werden. Dagegen waren bei C57BL/6 höhere Werte des IL-10 als bei BALB/c zu messen. IL-10 kann durch LcrV induziert werden und wirkt immunsupprimierend durch eine Unterdrückung der IFN- $\gamma$ - und TNF- $\alpha$ -Bildung. Das IL-6 balanciert pro- und antiinflammatorische Cytokine aus und ist damit beteiligt am Schutz vor Infektionen. Es moduliert zudem den Wechsel der neutrophilen Antwort zur monozytären Immunantwort.

Um eine Infiltration von Entzündungszellen an den Ort der Infektion zu ermöglichen, sind das Vorhandensein und die Expression von Integrinen und Adhäsionsmolekülen von großer Bedeutung. Bei C57BL/6 konnte eine schnellere Expression des Integrins LFA-1 nachgewiesen werden als bei BALB/c. Weiterhin weist C57BL/6 vermehrt ICAM-1+ Zellen in den Läsionen auf. VCAM-1 wurde gleichermaßen in C57BL/6 und BALB/c außerhalb von Infektionen nachgewiesen. Es spielt in mukosalen Infektionen eine größere Rolle in



Verbindung mit VLA-4 als MAdCAM-1, das normalerweise im Darmgewebe für das Zelltrafficking verantwortlich ist. Bei oralen Infektionen wurde jedoch auch vermehrt MAdCAM-1 nachgewiesen wie auch die Bildung von MAdCAM+ Venolen.