

Intrazelluläre Bakterien und Pathogen-Wirt-Interaktion

Entschlüsselung eines neuen Austrittswegs von Chlamydien

JANA SCHOLZ, DAGMAR HEUER

FACHGEBIET 18 „SEXUELL ÜBERTRAGBARE BAKTERIELLE ERREGER (STI) UND HIV“, ROBERT KOCH-INSTITUT, BERLIN

***Chlamydia* spp. are pathogenic bacteria sharing an obligate intracellular cycle of development including host cell invasion, intracellular replication and egress. In the past, egress of *Chlamydia* spp. was described to be either lytic or non-lytic extrusion formation. Recently, we characterized an additional novel non-lytic egress pathway: *Chlamydia*-containing sphere formation. It is the predominant egress type for *C. psittaci* and the predominant non-lytic egress type for *C. trachomatis*, underlining its relevance for *Chlamydia* biology.**

DOI: 10.1007/s12268-024-2334-3

© The Author(s) 2024

■ Zur Gattung *Chlamydia* werden heutzutage elf Arten gezählt, die allesamt Infektionen bei Tier und/oder Mensch hervorrufen können.

Von besonderem Interesse für die menschliche Gesundheit sind *C. trachomatis*, eines der weltweit häufigsten sexuell über-

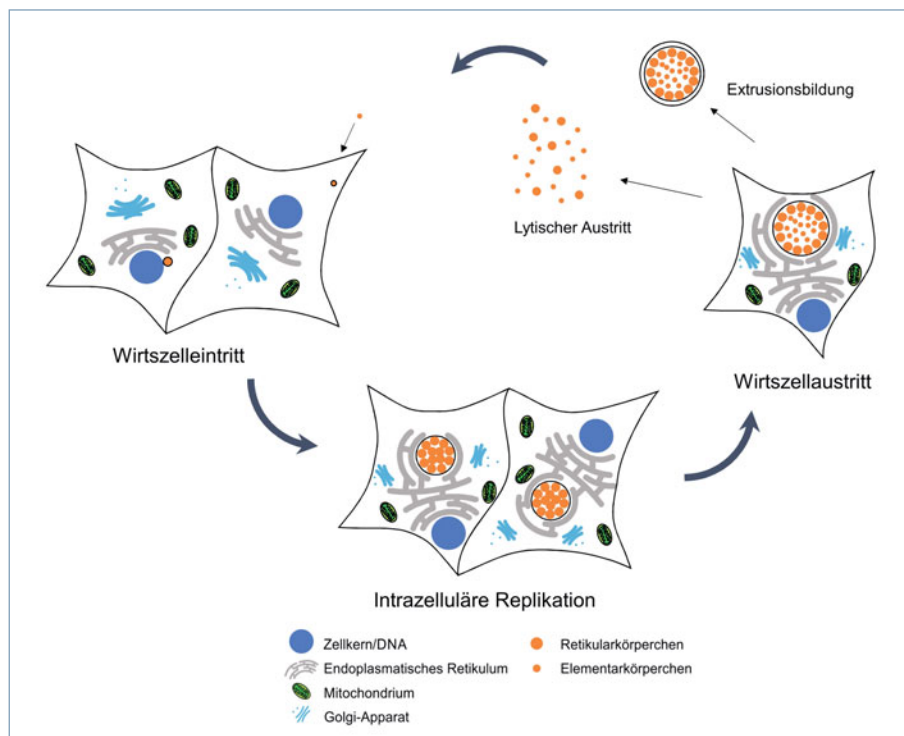
tragbaren Bakterien, *C. pneumoniae* und *C. psittaci*, beides Erreger von atypischen Lungenentzündungen [1]. Korrekt diagnostizierte Infektionen mit diesen Erregern werden mittels Antibiotikatherapie behandelt. Jedoch können unbehandelte urogenitale, auch asymptomatische Infektionen mit *C. trachomatis* zur Unfruchtbarkeit bei Frauen führen, während wiederholte, unbehandelte Augeninfektionen mit *C. trachomatis* eine häufige Erblindungsursache darstellen. Auch bei *C. psittaci*-Infektionen kommt es häufig zu Fehldiagnosen aufgrund der ähnlichen Symptome wie bei anderen Atemwegserregern. In der Folge unbehandelte Infektionen mit *C. psittaci* können zu schweren Lungenentzündungen und in Einzelfällen zum Tod führen [2, 3].

Intrazelluläre Entwicklung von Chlamydien

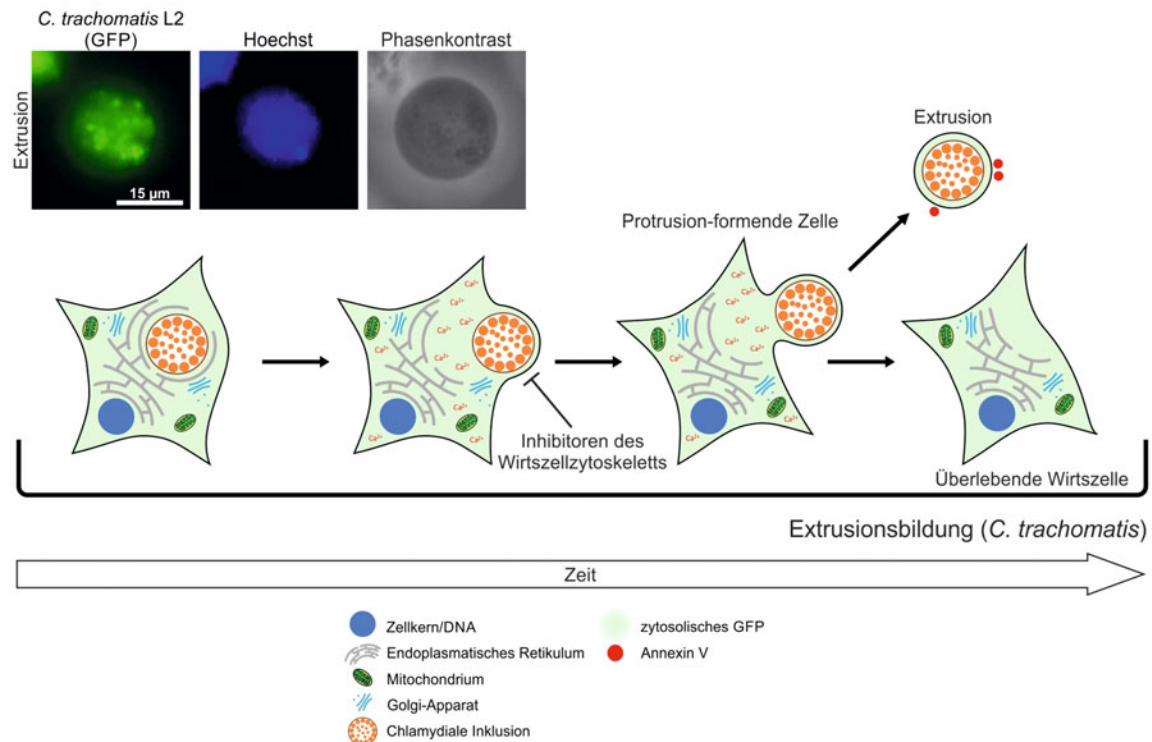
Chlamydien durchlaufen einen außergewöhnlichen intrazellulären Entwicklungszyklus, der sie von anderen intrazellulär lebenden Mikroorganismen unterscheidet (Abb. 1, [4]). Ein besonderes Merkmal dieses Entwicklungszyklus ist es, dass Chlamydien in zwei verschiedenen Zustandsformen vorliegen können: als Elementarkörperchen oder als Retikularkörperchen.

Elementarkörperchen sind etwa 0,3 µm klein, infektiös und dringen zu Beginn der Infektion in die Wirtszellen ein. In die Wirtszelle gelangen sie über die Aufnahme in ein membranumschlossenes Vesikel, in dem die Chlamydien während ihrer intrazellulären Entwicklung verbleiben. Durch gezielte Membranveränderungen wandeln sie dieses Vesikel in eine spezielle intrazelluläre Nische um, die als chlamydiale Inklusion bezeichnet wird. Parallel dazu verwandeln sich die Elementarkörperchen zu Retikularkörperchen. Retikularkörperchen sind größer als Elementarkörperchen (etwa 1 µm im Durchmesser), nicht infektiös, aber vermehrungsfähig.

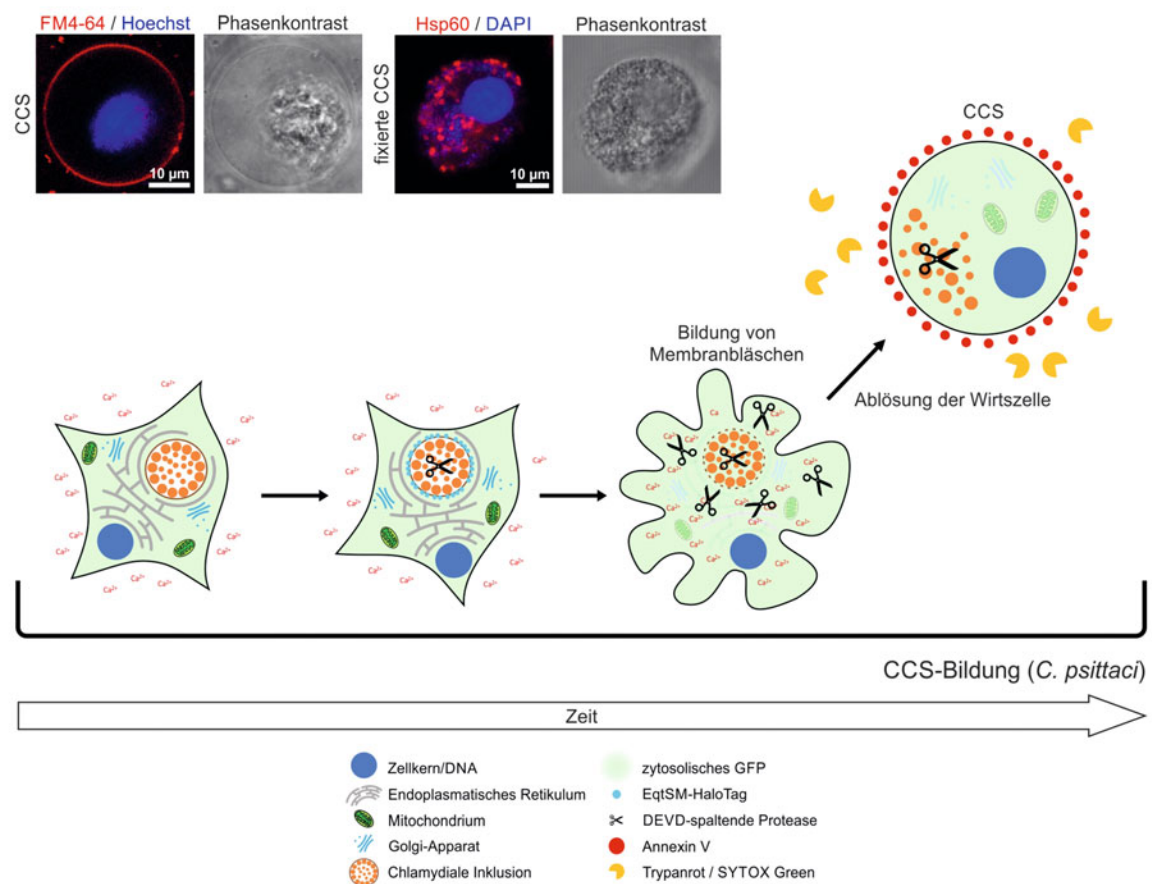
Es folgt eine Phase der intrazellulären Replikation, in der die Chlamydien dem Wirt Nährstoffe entziehen, die sie u. a. zur Ver-



▲ **Abb. 1:** Entwicklungszyklus von Chlamydien. Chlamydien dringen als Elementarkörperchen in die Wirtszelle ein und wandeln sich dort in der chlamydialen Inklusion zu Retikularkörperchen. Diese replizieren intrazellulär, bevor sie sich zu Elementarkörperchen zurückverwandeln und aus der Wirtszelle austreten. Dies geschieht lytisch oder mittels Extrusionsbildung.



▲ **Abb. 2:** Extrusionsbildung bei *Chlamydia trachomatis*. Klassische Merkmale der Extrusionsbildung sind die Abhängigkeit von Kalzium und dem Zytoskelett der Wirtszelle, die Bildung der Protrusion, das Abschnüren einer mit zwei Membranen umhüllten Extrusion und das Überleben der Wirtszelle. Modifiziert nach [10], CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.



▲ **Abb. 3:** CCS-Bildung bei *Chlamydia psittaci*. Klassische Merkmale der CCS-Bildung sind die Aktivierung der Aspartat-Glutamat-Valin-Aspartat(DEVD)-spaltenden Protease, der rapide Kalziumeinstrom, die Destabilisierung der Inklusionsmembran, die Bildung von Membranbläschen und das Ablösen der kompletten Wirtszelle zur Bildung der CCS. Modifiziert nach [10], CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

mehrung mittels binärer Zellteilung nutzen. Nachdem sich die Anzahl an Chlamydien innerhalb weniger Stunden vervielfacht hat, beginnen sie, sich wieder in Elementarkörperchen zurückzuverwandeln. Die erneut infektiösen Elementarkörperchen treten nun aus der Wirtszelle aus, sodass sie weitere Zellen infizieren können. Für den Wirtszellaustritt von Chlamydien waren in der Vergangenheit zwei Wege beschrieben: der lytische Austritt und die nicht-lytische Bildung von Extrusionen [4].

Extrusionen, ein einzigartiger Exit-Mechanismus der Chlamydien

Die Bildung von Extrusionen ist ein Mechanismus des Wirtszellaustritts, der spezifisch für Chlamydien ist und der sich dadurch auszeichnet, dass die Wirtszelle überlebt [5]. Schaut man sich diesen Mechanismus genauer an, fällt auf, welches hohe Maß an spezifischer Wirtszellmanipulation notwendig ist, um Extrusionen zu bilden (**Abb. 2**). Damit Extrusionsbildung stattfinden kann, ist es essenziell, dass STIM1 (ein Kalziumsensor des Endoplasmatischen Retikulums) und ITPR3 (ein Kalziumkanal des Endoplasmatischen Retikulums) zur chlamydialen Inklusion rekrutiert werden, die dort die lokalen Kalziumlevel steuern [6]. Die Anwesenheit von Kalzium trägt zur Regulation von verschiedenen Kinasen und Phosphatasen bei. Wichtig für die Extrusionsbildung bei Chlamydien ist es, dass die Myosin-leichte-Ketten-Kinase aktiviert wird und die Myosin-leichte-Ketten-Phosphatase deaktiviert wird, sodass die regulatorische leichte Kette von Myosin phosphoryliert vorliegt und das Motorprotein Myosin im Zytoskelett der Wirtszelle aktiviert wird [7]. Liegt auch das Strukturprotein Aktin in filamentöser Form vor, kann die chlamydiale Inklusion mithilfe von Myosin entlang der Aktinfilamente zur Plasmamembran transportiert werden. Dort wird eine Protrusion gebildet, das heißt, die Inklusion von der Plasmamembran der Wirtszelle wird ummantelt und aus der Zelle gedrückt. Die Extrusionsbildung wird vollendet, indem ein kontraktiler Ring die Protrusion von der Wirtszelle abschnürt [5]. Die mit infektiösen Chlamydien gefüllte Extrusion ist also von zwei Membranen umhüllt, die teilweise Phosphatidylserin präsentieren, während die intakte Wirtszelle zurückbleibt [8].

Exit von *Chlamydia psittaci* – überwiegend *Chlamydia-containing spheres*

Die Erforschung des nicht lytischen Wirtszellaustritts von Chlamydien beschränkte sich lange Zeit auf *C. trachomatis*. Jedoch wurde gezeigt, dass auch in Kulturen, die mit anderen Chlamydienarten infiziert waren, runde Strukturen zu finden sind, die im Phasenkontrast Extrusionen ähneln [9]. Unserer Gruppe gelang es vor Kurzem, die Bildung dieser Strukturen mikroskopisch zu verfolgen. Dabei konnten wir zeigen, dass es sich dabei um bis dahin unbeschriebene Strukturen handelt, die über einen von der Extrusionsbildung komplett unabhängigen Mechanismus entstehen. Wir haben diesen Strukturen den Namen *Chlamydia-containing spheres* (CCS) gegeben [10].

Auch bei diesem Mechanismus zeigten sich beim genaueren Hinsehen eine Vielzahl von spezifischen Faktoren, die zur Bildung der CCS führen (**Abb. 3**). CCS-Bildung beginnt mit der proteolytischen Spaltung eines Tetrapeptids der Sequenz DEVD innerhalb der chlamydialen Inklusion. Danach steigt die Kalziumkonzentration im Zytosol der infizierten Zellen an, und die Plasmamembran der Wirtszelle bildet Membranbläschen aus. Auch die Inklusionsmembran destabilisiert sich, und in der ganzen Zelle ist nun die Spaltung des Tetrapeptids zu beobachten. Indem sich die komplette Wirtszelle aus dem Zellverband herauslöst, wird die CCS-Bildung vollendet. Die mit infektiösen Chlamydien und zellulären Bestandteilen, z. B. dem degenerierten Zellkern, gefüllte CCS ist also nur von einer Membran umhüllt, die Phosphatidylserin präsentiert, aber dabei undurchlässig für Farbstoffe wie Trypanrot oder SYTOX-Green bleibt. Bei diesem Exit-Mechanismus bleibt keine Wirtszelle zurück [10].

CCS-Bildung beschränkt sich nicht nur auf *Chlamydia psittaci*

Überraschenderweise konnten wir feststellen, dass auch *C. trachomatis* in der Lage ist, CCS zu bilden. Betrachtet man den Wirtszellaustritt von *C. trachomatis* über einen längeren Zeitpunkt, beobachtet man CCS-Bildung auch bei *C. trachomatis* häufiger als Extrusionsbildung. Damit ist CCS-Bildung auch für *C. trachomatis* der prädominante nicht-lytische Exit-Mechanismus. Insgesamt deutet dies

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

darauf hin, dass CCS-Bildung ein bedeutender und konservierter Teil des chlamydialen Entwicklungszyklus ist. Vermutlich könnte auch die Biologie der Chlamydien inklusive Wirtsspektrum, Strategien zum Schutz vor zellulären Abwehrmechanismen und die bakterielle Pathogenität durch die CCS-Bildung mitgeprägt sein. Weitere Studien in komplexeren Zellkulturmodellen sind nötig, um die Vor- und Nachteile der verschiedenen chlamydialen Austrittswege für die einzelnen Spezies erklären zu können.

Danksagung

Wir bedanken uns bei allen Ko-Autorinnen und -Autoren der Originalstudie: Gudrun Holland, Michael Laue und Sebastian Banhart. Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Schwerpunktprogramms „Wirtszellaustritt intrazellulärer Pathogene“ (SPP 2225, HE 6008/4-1) gefördert. ■

Literatur

- [1] Bachmann NL, Polkinghorne A, Timms P (2014) *Chlamydia* genomics: providing novel insights into chlamydial biology. Trends Microbiol 22: 464–472
- [2] Sturd N, Rucks EA (2023) *Chlamydia trachomatis*. Trends Microbiol 31: 535–536
- [3] Dembek ZF, Mothershead JL, Owens AN et al. (2023) Psittacosis: An Underappreciated and Often Undiagnosed Disease. Pathogens 12, DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens12091165>
- [4] Banhart S, Schäfer EK, Gensch JM, Heuer D (2019) Sphingolipid Metabolism and Transport in *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci* Infections. Front Cell Dev Biol 7: 1–8
- [5] Hybiske K, Stephens RS (2007) Mechanisms of host cell exit by the intracellular bacterium *Chlamydia*. Proc Natl Acad Sci USA 104: 11430–11435

- [6] Nguyen PH, Lutter EI, Hackstadt T (2018) *Chlamydia trachomatis* inclusion membrane protein MrcA interacts with the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 3 (ITPR3) to regulate extrusion formation. PLoS Pathog 14: 1–19
- [7] Lutter EI, Barger AC, Nair V, Hackstadt T (2013) *Chlamydia trachomatis* Inclusion Membrane Protein CT228 Recruits Elements of the Myosin Phosphatase Pathway to Regulate Release Mechanisms. Cell Rep 3: 1921–1931
- [8] Zuck M, Ellis T, Venida A, Hybiske K (2017) Extrusions are phagocytosed and promote *Chlamydia* survival within macrophages. Cell Microbiol 19: 1–12
- [9] Zuck M, Sherrid A, Suchland R et al. (2016) Conservation of extrusion as an exit mechanism for *Chlamydia*. Pathog Dis 74: 1–4
- [10] Scholz J, Holland G, Laue M et al. (2024) *Chlamydia*-containing spheres are a novel and predominant form of egress by the pathogen *Chlamydia psittaci*. mBio 15: e01288-24

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle

ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Dagmar Heuer
 Fachgebiet 18 „Sexuell übertragbare bakterielle Erreger (STI) und HIV“
 Robert Koch-Institut
 Nordufer 20
 D-13353 Berlin
heuerd@rki.de
www.rki.de/DE/Content/Institut/OrgEinheiten/Abt1/FG18/fg18_node.html

AUTORINNEN



Jana Scholz

2015–2018 Bachelorstudium der Biochemie an der FU Berlin. 2018–2021 Masterstudium der Biologischen Chemie an der TU Berlin. Seit 2021 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Robert Koch-Institut, Berlin und Promotionsstudium der Biochemie an der FU Berlin bei Dr. D. Heuer und Prof. Dr. O. Daumke.



Dagmar Heuer

1994–1999 Humanbiologiestudium an der Universität Marburg. 2004 Dissertation am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin und Marburg bei Prof. Dr. T. F. Meyer und Prof. Dr. H.-D. Klenk. 2004–2011 Wissenschaftliche Mitarbeiterin und Teamleiterin am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin. 2011–2017 Nachwuchsgruppen- und seit 2017 Fachgebietsleiterin am Robert Koch-Institut, Berlin.