

AG Schnare

Forschungsschwerpunkte der Arbeitsgruppe Schnare

Funktion, Regulation und Aktivierung von antimikrobiellen Proteinen bei der Immunantwort und bei Entzündungsreaktionen

Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit Fragestellungen der angeborenen Immunität. Während der Frühphase einer Infektion kontrolliert das angeborene Immunsystem die Pathogene, bis das sich langsamer entwickelnde erworbene Immunsystem die Infektbekämpfung übernimmt und letztendlich das Pathogen eliminiert. Zusätzlich instruiert das angeborene Immunsystem das erworbene Immunsystem zur Initiierung einer angebrachten Immunantwort und kontrolliert damit die Effektorantworten des adaptiven Immunsystems. Eine sehr wichtige Aktivität des angeborenen Immunsystems ist die Freisetzung von antimikrobiellen Produkten, welche ein unkontrolliertes Wachstum und eine unkontrollierte Verbreitung der Erreger im Wirtsorganismus verhindern. Diese Moleküle repräsentieren die erste Verteidigungslinie der Immunantwort und zeigen direkte mikrobizide Eigenschaften. Die Aktivität der antimikrobiellen Proteine während der Frühphase der Infektion ist für die Kontrolle des Erregers von entscheidender Bedeutung. Trotz ihrer fundamentalen Rolle bei der Immunabwehr ist über die Induktion der Expression und der nachfolgenden Regulation der antimikrobiellen Proteine während der Immunantwort wenig bekannt.

In unserem Labor wird daher bearbeitet, wie antimikrobielle Proteine aktiviert und kontrolliert werden und welche Rolle Muster-Erkennungs-Rezeptoren aus der Familie der Toll-ähnlichen Rezeptoren dabei einnehmen. Weiterhin untersuchen wir, ob diese Proteine für die frühe Infektabwehr eine wichtige Rolle spielen und es eine Selektivität dieser Proteine während der Immunantwort gegen das sie induzierende Agens gibt.

Aktuelle Fragestellungen

1. Welche Funktion haben antimikrobielle Proteine für das Immunsystem?
2. Gibt es eine Selektivität der angeborenen Immunantwort auf unterschiedliche Gruppen von Erregern?
3. Welche Ausprägung hat die angeborene Immunität im neonatalen und embryonalen Zustand?

1. Charakterisierung neuer antimikrobieller Proteine

Im Moment beschäftigen wir uns hauptsächlich mit der funktionalen Beschreibung und Analysen zur Expression von murinem *Bactericidal/Permeability Increasing Protein* (BPI). BPI ist ein 55 kDa großes Protein, welches selektiv auf multiple Weise gegen gramnegative Bakterien wirkt. Es vermittelt direkte zytotoxische Aktivität gegenüber gramnegativen Bakterien, opsonisiert diese Bakterien, was in erhöhter Phagozytose der Bakterien mündet und neutralisiert Lipopolysaccharid. Die biologischen Funktionen von BPI sind bisher nur im humanen System beschrieben

worden, da Sequenzinformationen von murinem BPI bis vor kurzem nicht verfügbar waren.

Chronische Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* und die nachfolgenden inflammatorischen Immunantworten sind Schlüsselfaktoren bei der Gewebszerstörung der Lunge von Mukoviszidose Patienten. Weiterhin kommt es im Verlauf der Erkrankung zur Bildung von *anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies* (ANCA) und in bis zu 90% der untersuchten Patienten wurden ANCA mit Aktivität gegen BPI nachgewiesen. Das Vorhandensein der ANCA-BPI wurde außerdem mit der erhöhten Kolonisierung von Bakterien im respiratorischen Trakt von Mukoviszidose Patienten korreliert.

Projekte zu dieser Thematik beschäftigen sich mit der Funktion und Expression von BPI und BPI-verwandte Proteine im Immunsystem und der Rolle von BPI und BPI-verwandte Proteine für die Entstehung von akuten chronischen Entzündungen mit Bakterien in der Maus.

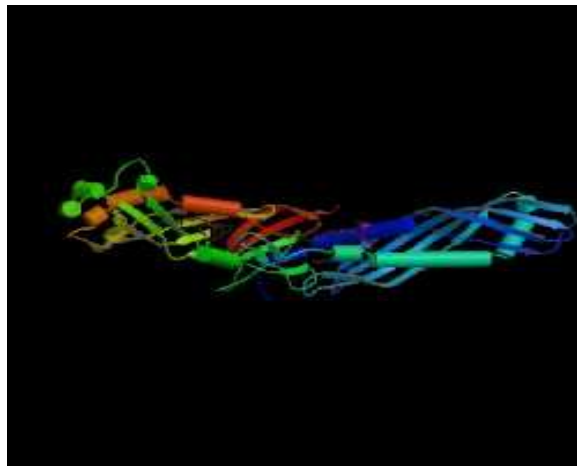


Fig. 1: Crystal structure of human BPI (structure is taken from PDB protein data bank)

2. Unterschiedliche Qualitäten der angeborenen Immunität

In Vertebraten führt die Aktivierung von TLRs zur Induktion der sowohl angeborenen, als auch erworbenen Immunität. Es ist gut dokumentiert, dass die Effektormechanismen der erworbenen Immunität (z.B. TH1 gegenüber TH2) keine Selektivität gegen definierte Gruppen von Pathogenen zeigen. Sie sind vielmehr davon abhängig wo sich das Pathogen im Wirt aufhält (z.B. intrazellulär gegenüber extrazellulär). Dies geschieht unabhängig davon, ob sich zum Beispiel um ein grampositives oder gramnegatives Bakterium handelt. Im Gegensatz dazu besitzen antimikrobielle Proteine der angeborenen Immunität eine Selektivität gegenüber Mikroorganismen, die für ihre Induktion verantwortlich sind. Lysozym zum Beispiel ist hoch bakterizid gegenüber grampositiven Bakterien, das *Bactericidal/Permeability Increasing Protein* (BPI) ist bakterizid gegenüber gramnegativen Bakterien und Acyloxyacylhydrolase entgiftet Lipopolysaccharid (LPS) gramnegativer Bakterien. Jede Gruppe von Pathogenen besitzt spezifische molekulare Muster, die unterschiedliche TLRs aktivieren. Peptidoglykan (PGN) zum Beispiel, ein Hauptbestandteil der Zellwand grampositiver Bakterien, aktiviert TLR2, wohingegen

LPS, Zellwandbestandteil gramnegativer Organismen, Antworten über TLR4 induziert.

In dieser Studie wird untersucht, ob die Produktion und Freisetzung antimikrobieller Proteine über die Aktivierung von TLRs induziert wird und auf welcher Ebene diese Prozesse reguliert werden. Weiterhin wird analysiert, ob die Aktivierung unterschiedlicher TLRs durch unterschiedliche Mikroorganismen zu einer Induktion von verschiedenen antimikrobiellen Proteinen führt, und damit eine Selektivität angeborener Abwehrmechanismen erreicht wird.

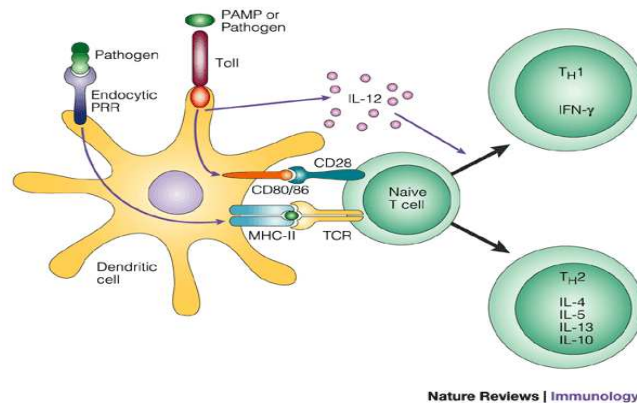


Fig. 2: Innate immune recognition (Medzhtiov, Nature Immunology Reviews, 2001)

3. Angeborene Immunität im embryonalen und neonatalen Zustand

Die Funktion des Immunsystems der Neonaten befindet sich vor der Geburt und in einem Zeitraum von ca. 6 Monaten nach der Geburt in einem Zustand der transienten Suppression. Dies macht sie für postnatale Infektionen besonders anfällig. Welcher Mechanismus dem supprimierten Status des neonatalen Immunsystems zu Grunde liegt, ist nicht bekannt.

Die Erkennung von Pathogenen über Rezeptoren der Familie der Rolle Muster-Erkennungs-Rezeptoren (*Pattern-Recognition-Receptors*, PRRs) ist für eine Aktivierung der angeborenen Immunität von entscheidender Bedeutung. Toll-ähnlichen Rezeptoren (*Toll-Like-Receptors*, TLRs) gehören zur Klasse der PRRs. Die Mitglieder der TLR-Familie werden über Moleküle wie zum Beispiel Lipopolysaccharid, einem integralen Zellwandbestandteil gramnegativer Bakterien oder Peptidoglykan, einem Proteoglykan und Bestandteil grampositiver Zellwände stimuliert. Inzwischen ist bekannt, dass die Aktivierung der TLRs die Ausbildung der adaptiven Immunantwort kontrolliert.

Dieses Projekt beschäftigt sich mit der Fragestellung, welche Funktion das angeborene Immunsystem beim Neonaten einnimmt. Gibt es einen kausalen Zusammenhang zwischen Funktion des angeborenen Immunsystems und postnataler Infektionsanfälligkeit.

Kontakt

Prof. Dr. rer. physiol. Markus Schnare

Institut für Immunologie
Biomedizinisches Forschungszentrum
Universität Marburg
Hans-Meerwein-Straße 2
D-35032 Marburg

Tel.: 06421 28 63081

Fax: 06421 28 66813

E-Mail: markus.schnare@staff.uni-marburg.de

Mitarbeiter:

- Maria Stromiedel
- Eva-Maria Wittmann
- Olaf Pinkenburg
- Sandra Stein
- Torben Meyer

Ehemalige Mitarbeiter:

- Dr. rer. nat. Melanie Eckert
- Dr. rer. nat. Diana Aichele
- Dipl. Ing. Marc Schönefeld
- Dipl.-Biol. Lotte Schmidt
- Dipl.-Molekulare Medizinerin Anne Stromiedel
- Dipl.-Biol. Diana Friedrich
- Irene Wittmann

Kooperationen

Neben den Kooperationen, die intern im Institut gepflegt werden, arbeiten wir hauptsächlich mit folgenden externen Arbeitsgruppen zusammen:

Univ.-Prof. Dr. Jörg Dötsch
Klinik für Kinder und Jugendliche
Uniklinik Köln
50924 Köln

Dr. Roman Gerlach
Robert Koch-Institut
Burgstraße 37
38855 Wernigerode

Prof. Dr. Dr. André Gessner
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Universität Regensburg
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93053 Regensburg

Dr. med. Jonathan Jantsch
Mikrobiologisches Institut - Klinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene
Universitätsklinikum Erlangen
Wasserturmstr. 3/5
91054 Erlangen

Salman Qureshi MD, FRCPC
Assistant Professor
Department of Medicine,
McGill University Health Center
Montreal, Canada

offene Stellen

Die Arbeitsgruppe hat diverse aktuelle Projekte als Bachelor-, Master-, Diplom- oder Doktorarbeiten für Studentinnen/Studenten der Biologie oder Humanbiologie zu vergeben.

Publikationen

Originalien

Jöckel S, Nees G, Sommer R, Zhao Y, Cherkasov D, Hori H, Ehm G, Schnare M, Nain M, Kaufmann A, Bauer S. 2012. The 2'-O-methylation status of a single guanosine controls transfer RNA-mediated Toll-like receptor 7 activation or inhibition. *J Exp Med.* 209(2): 235-241.

Klaffenbach D, Friedrich D, Strick R, Strissel PL, Beckmann MW, Rascher W, Gessner A, Dötsch J, Meissner U, Schnare M. 2011. Contribution of different placental cells to the expression and stimulation of antimicrobial proteins (AMPs). *Placenta.* 32(11):830-7

Jantsch, J., Wiese, M., Castiglione, K., Schödel, J., Gläsner, J., Kolbe, S., Schleicher, U., Eckardt, K.U., Hensel, M., Lang, R., Bogdan, C., Schnare, M. *, and C. Willam *. 2011. Toll-like receptor activation and hypoxia use distinct signalling pathways to stabilize HIF-1 α and result in differential HIF-1 α -dependent gene expression. *J. Leukoc. Biol.* 90(3):551-62.

*These authors contributed equally to this work.

Wittmann, I., Schönefeld, M., Aichele, D., Groer, G., Gessner, A., and M. Schnare. (2008). Murine bactericidal / permeability-increasing protein inhibits the endotoxic activity of LPS and Gram-negative bacteria. *J. Immunol.* 180 :7546-7552.

Knerr, I., Schnare, M., Hermann, K., Kausler, S., Lehner, M., Vogler, T., Rascher, W., and U. Meißner. (2007). Fusiogenic endogenous-retroviral syncytin-1 exerts anti-apoptotic functions in staurosporine-challenged cells. *Apoptosis.*12 (1):37-43.

Aichele, D. *, Schnare, M. *, Saake, M., Röllinghoff, M., and A. Gessner. (2006). Expression and antimicrobial function of bactericidal permeability increasing protein (BPI) in cystic fibrosis patients. *Infection and Immunity.* 74 (8): 4708-4714.

*These authors contributed equally to this work.

Eckert, M., Wittmann, I., Röllinghoff, M., Gessner, A., and M. Schnare. (2006). Endotoxin-induced expression of mouse Bactericidal Permeability / Increasing Protein is mediated exclusively by Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN- β -dependent pathways. *J. Immunol.* 176: 522-528.

Klaffenbach, D., Rascher, W., Röllinghoff, M., Dötsch, J., Meißner, U., and M. Schnare. (2005). Regulation and signal transduction of Toll-like receptors in human placenta cell lines. *The American Journal of Reproductive Immunology.* 53: 77–84.

Lutz, M. B., Schnare, M., Menges, M., Rössner, S., Röllinghoff, M., Schuler, G., and A. Gessner. (2002). Differential functions of IL4R type I and II for dendritic cell maturation and IL-12 production and their dependency on GM-CSF. *J. Immunol.*, 169: 3574-3580.

Alexopoulou, L. *, Thomas, V. *, Schnare, M. *, Lobet, Y., Anguita, A., Schoen, R. T., Medzhitov, R., Fikrig, E., and R. A. Flavell. (2002). Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and in TLR1- and TLR2-deficient mice. *Nat. Med.*, 8: 878-884.

*These authors contributed equally to this work

Schnare, M., Barton, G. M., Holt, A. C., Takeda, K., Akira, S., and R. Medzhitov. (2001). Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses. *Nat. Immunol.*, 10: 947-950.

Meißner, U., H. Blum, M. Schnare, M. Röllinghoff, and A. Gessner. (2001). A soluble form of the murine common γ chain is present at high concentrations *in vivo* and suppresses cytokine signaling. *Blood*, 97: 183-191.

Schnare, M., Holt, A. C., Takeda, K., Akira, S., and R. Medzhitov. (2000). Recognition of CpG DNA is mediated by signaling pathways dependent on the adaptor protein MyD88. *Curr. Biol.*, 18: 1139-1142.

Schnare, M., H. Blum, S. Jüttner, M. Röllinghoff, and A. Gessner. (1998). Specific antagonism of type I interleukin-4 receptor (IL-4R) with a mutated form of murine IL-4. *J. Immunol.*, 161: 3484-3492.

Übersichtsarbeiten

A. Holweg, M. Schnare and A. Gessner. 2011. The *Bactericidal/Permeability-Increasing Protein* (BPI) in the innate defence of the lower airways. *Biochem Soc Trans.* 39(4):1045-1050

Lafferty, E.I., Qureshi, S.T., and M. Schnare. 2010. The role of toll-like receptors in acute and chronic lung inflammation. *J Inflamm*, 7:57.

Schnare, M., Röllinghoff, M., and S. Qureshi. (2006). Toll-like receptors: Sentinels of host defence against bacterial infection. *International Archives of Allergy and Immunology.* 139: 75-85.

Buchbeiträge

Schnare, M., and S. Qureshi. (2010). Innate immunity and host defence against microbial infections. *Molecular Microbiology, Diagnostic Principles and Practice, 2nd edition*: Chapter on innate immunity.