
Immunbiologie von humanpathogenen Hefen und Schimmelpilzen

Univ. Prof. Dr. Peter F. Zipfel²,
M. Sci. ShanShan Luo¹ und
Dipl.-Biol. Susann Schindler¹

¹ *Abteilung Infektionsbiologie, Leibniz Institut
für Naturstoff Forschung und Infektionsbio-
logie und*

² *Friedrich Schiller Universität, Jena*

Pilze sind vielfältig verbreitete Organismen, die einen echten Zellkern und eine starre Zellwand aufweisen und die Sporen ausbilden. Als chlorophyllfreie Organismen, die sich dadurch von Pflanzen unterscheiden, führen Pilze keine Photosynthese aus. Sie ernähren sich von organischen Substanzen lebender und toter Organismen und können so unter Lichtabschluss überleben. Da Pilze bei der Umsetzung von organischem

Kohlenstoff beteiligt sind, spielen sie in der Natur eine wichtige Rolle. Für das Wachstum benötigen Pilze eine feuchte Umgebung, dabei ist das Vorhandensein von Wasser eine wesentliche Voraussetzung. Somit ist das Vorkommen von Pilzen in Innenräumen ein Zeichen für Feuchtigkeit und weist auf eventuelle Wasserschäden hin. Der Anstieg der Luftfeuchte in Räumen kann verschiedene Ursachen haben und ist zum Beispiel bedingt durch dichtere Fenster, geringe Heizleistung und zu wenig Lüften der Räume. Daneben ist das Vorkommen und Zugänglichsein von bestimmten Nährmedien und Nährstoffen wesentlich. Das Vorkommen von Kohlenhydraten allein reicht nicht aus.

Wenn sich die äußeren Bedingungen ändern kann der Pilzorganismus das Wachstum einstellen. Verbessern sie sich dann wieder kann ein scheinbar eingetrocknetes Mycel wieder auskeimen und wachsen. Pilze werden in der Regel in Spross- und Fadenpilze unterteilt. Pilze können ein ausgeprägtes Mycel entwickeln, das ein Geflecht

von Hyphen darstellt und sich so auf ihrer Nährstoffquelle ausbreiten. Hefen sind einzellige Sprosspilze, die aus einzelnen ovalen Zellen (ca. 10 µm groß) bestehen und die kein echtes Mycel ausbilden, sondern ein Pseudomycel, mit Einschnürungen an den Kontaktstellen zweier Zellen. Die Fadenpilze werden nach ihrem Habitat in Dermatophyten (auf der Haut) vorkommende Pilze und Schimmelpilze mit einer weiteren Verbreitung unterteilt. Aspergillus und Penicillium sind die am weitesten verbreiteten Schimmelpilze. Weltweit sind mehr als 60.000 Schimmelpilzarten bekannt, die in vielen ökologischen Nischen aber auch in Wohnräumen vorkommen. Als sogenannte Saprophyten können sich filamentöse Pilze von abgestorbenen und synthetisierten organischen Substanzen ernähren.

Humanpathogene Sprosspilze sind verschiedene Candida Arten wie *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* oder *C. glabrata*. Bei den Fadenpilzen, die als Dermatophyten beim Menschen Dermatomykosen verursachen sind *Trichophyton rubrum* und *Arthroderma benhamiae* die häufigsten Erreger. Bei den Schimmelpilzen ist es *Aspergillus fumigatus*, welcher Aspergillome, sowie allergische bronchiopulmonale Aspergillose und Pneumonien auslöst. Ebenfalls sind auch die Erreger *A. flavus* und *A. niger* häufige Auslöser von allergischen Aspergillosen.

Pilze kommen als sogenannte Kommensale auf der intakten Haut und in den Schleimhäuten von gesunden Personen vor und müssen in diesem Stadium nicht unbedingt Krankheiten verursachen. Wird jedoch der Immunstatus vermindert, zum Beispiel infolge von Infektionen, chronischen Erkrankungen oder einer Behandlung mit immunsuppressiven Arzneimitteln, so können diese Pilze in das tiefere Gewebe eindringen, sich ausbrei-

ten und schwerwiegende Erkrankungen wie Mykosen hervorrufen. So kann z.B. die Hefe *C. albicans*, die ubiquitär verbreitet ist, eine systemische Infektion (Candidiasis) verursachen. Bei eingeschränkter Immunität wie z.B. bei immunkomprimierten Patienten kommt es häufig zur Ausbreitung des Erregers und zu einer systemischen Infektion. Gefährliche und lebensbedrohliche Infektionen entstehen, wenn sich der Candida-Pilz im Körper ausbreitet und innere Organe, wie die Harnwege und die Niere, befällt. Wenn ein Pilz in das tiefere Gewebe eindringt, kann es so zu einer durch Candida induzierten Blutvergiftung kommen (Candida-Sepsis). Da diese Form der Erkrankung lebensbedrohlich sein kann, ist eine rechtzeitige Diagnose notwendig um eine effiziente Behandlung einzuleiten.

Eine besondere ökologische Nische für Dermatophyten und Schimmelpilze sind z.B. die Fingernägel oder Haare, wo sich u.a. *Trichophyton rubrum* und auch *A. flavus* nachweisen lassen.

Infektionen mit humanpathogenen Hefen und Pilzen stellen ein zunehmendes Gesundheitsproblem in der Bevölkerung dar und *Candida albicans* sowie der Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus* sind vor allem in immunkompromittierten Patienten häufig vorkommende Verursacher von Infektionen. Etwa 85 % der Pilzerkrankungen lassen sich auf *Candida albicans* als Erreger zurückführen. Neben diesen Erkrankungen können Pilzerkrankungen auch durch eine Vielzahl von Giftstoffen (Mykotoxine) hervorgerufen werden, welche einzelne Schimmelpilze produzieren und freisetzen. Diese Krankheitsform wird als Mykotoxikose bezeichnet. Ein Teil der Pilze produziert Aflatoxine die leberschädigend und krebserregend wirken.

Candida albicans ist ein Sprosspilz, der zu der normalen Flora eines Menschen gehören kann und sich bei vielen Personen auf der Haut, den Schleimhäuten in Mund, Darm und Vagina nachweisen lässt. So kann eine oberflächliche Infektion mit *Candida* durch ein feuchtes Milieu begünstigt werden und der Erreger findet in Hautfalten oder in der Schleimhaut ein gutes Milieu für das Wachstum. Diese oberflächlichen *Candida*-Erkrankungen haben ein typisches Aussehen, sie sind gut zu erkennen und zeichnen sich durch Juckreiz und Schmerzen aus.

In den letzten Jahren wurde gezeigt, dass das Wechselspiel zwischen humanpathogenen Pilzen mit dem Immunsystem des Menschen als ihrem Wirt sehr komplex ist. Obwohl sich die Hefen und Schimmelpilze unterscheiden, infizieren sie denselben Wirt und werden so vom selben Immunsystem erkannt und angegriffen.

Interessanterweise haben deshalb diese unterschiedlichen Pilze vergleichbare bzw. identische Evasionsstrategien entwickelt, mit denen sie den Immunangriff des Wirtes abwehren.

Um den Verlauf der Infektion eines *Candida*- oder *Aspergillus*-Pilzes zu verstehen, ist es besonders wichtig, das genaue Wechselspiel zu kennen, das den Immunaustausch zwischen dem pathogenen Erreger und dem Wirt ausmacht. Das menschliche Immunsystem bildet eine der ersten und wichtigen Barrieren gegen eindringende Erreger. Bereits auf den Schleimhäuten, aber vor allem nach Eindringen der pathogenen Hefen oder Schimmelpilzen in das Blut, bzw. in die Lunge, kommt der Erreger in Kontakt mit dem menschlichen Immunsystem und wird von diesem sofort erkannt und angegriffen. Bei dieser angeborenen, direkten Immunreaktion stellt das Komplementsystem des Menschen ein sehr frühes und äußerst effizientes Abwehrsystem

dar, welches innerhalb von Sekunden aktiv ist und den Pilz angreift. Neueste Arbeiten zeigen, dass vermutlich alle pathogenen Keime diese frühe Immunabwehr unterwandern und so überleben. Die Arbeiten der letzten Jahre haben gezeigt, dass pathogene Hefen und Schimmelpilze spezifische Schutzkomponenten aus dem menschlichen Blut an ihre Oberfläche binden und so der Immunerkennung entgehen (Abbildung 1).

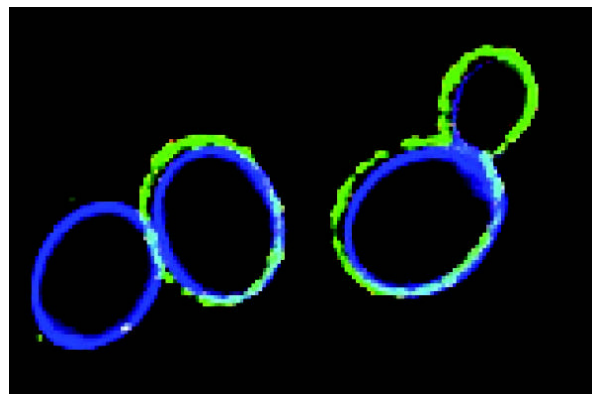


Abb. 1: Tarnung der humanpathogenen Hefe *Candida albicans* mit menschlichen Plasmapbestandteilen. Wenn die Hefe *C. albicans* mit humanem Blut in Kontakt kommt dann ist sie in der Lage spezifische Regulatoren des Wirtes an ihrer Oberfläche zu binden und entgeht so der Erkennung durch das Immunsystem ihres Wirtes. Das menschliche Plasmaprotein Komplementfaktor H ist durch Immunfärbung grün dargestellt und die Zellwand der Hefe durch eine weitere Färbung blau markiert (© PF. Zipfel).

Diese Art der Immunabwehr entspricht dem „Wolf im Schafspelz-Prinzip“ und ist nicht nur bei Hefen und Schimmelpilzen, sondern vermutlich bei allen infektiösen Erregern verbreitet. Die intensiven Untersuchungen in den letzten Jahren haben zu einem wesentlichen Verständnis der Immunabwehr von pathogenen Keimen geführt.

In verschiedenen Laboren, die sich mit der Immunabwehr von Hefen und Schimmelpilzen beschäftigen, wird die Komplement- und Immunevasion der humanpathogenen Hefe *C. albicans* und des Pilzes *Aspergillus fumigatus*

gatus intensiv untersucht. Beide Pilze binden Regulatoren aus dem menschlichen Blut an ihre Oberfläche und unterlaufen so die Immunerkennung und Immunabwehr des Menschen als deren Wirt (Abbildung 2).

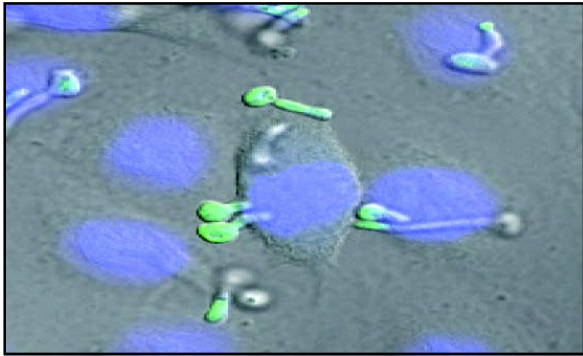


Abb. 2: Die humanpathogene Hefe *Candida albicans* im Kontakt mit menschlichen Fresszellen. Wenn die pathogene Hefe *C. albicans* (grün) mit humanen Monocyten in Kontakt (durchsichtig mit blau angefärbtem Zellkern) kann sie Pseudohyphen ausbilden, welche für den Kontakt und die Anlagerung (Adhäsion) an die Wirtszelle vermitteln. Zusätzlich wird die Aufnahme der Hefezelle verstärkt und es kommt zu einer intrazellulären Form. (© S Luo und PF. Zipfel)

Diese Forschungsarbeiten zielen darauf ab, die einzelnen Rezeptoren auf der Oberfläche der Erreger zu identifizieren und den Mechanismus der Immunabwehr genauer aufzuklären. Mit diesen Ansätzen wird es nun möglich, neue Wirkstoffe für die Behandlung einer *Candida* oder *Aspergillus* Infektion zu suchen und ebenfalls neue empfindliche Testsysteme zum eindeutigen Nachweis der unterschiedlichen Erreger zu etablieren. Die humanpathogene Hefe *Candida albicans* ist ein fakultativer Sprosspilz, der oberflächliche Haut- und Schleimhaut-Mykosen, sowie tiefe Organmykosen verursachen kann und der sich auf Kathedern und anderen medizinischen Materialien etablieren und ausbreiten kann. Als humanpathogene Organismen sind *Candida albicans*, wie auch *Aspergillus fumigatus* auf den direkten Angriff der Immunabwehr des Wirtes sehr gut

vorbereitet. Beide Erreger sind in der Lage, einen Immunangriff von ihrem jeweiligen Wirt zu parieren und können so trotz des hochwirksamen Immunsystems des Wirtes überleben und Krankheiten bzw. Allergien verursachen. Das Immunsystem des Menschen als Wirt von pathogenen Hefen und Schimmelpilzen ist in mehreren Schichten aufgebaut, die sich beim ersten Kontakt mit einem Erreger zeitlich trennen lassen. Direkt nach dem Eindringen eines Erregers (innerhalb von Sekunden) wird das angeborene Immunsystem aktiviert, das auch als Innate Immunity bezeichnet wird. Das Komplementsystem ist ein sehr früh wirkender und äußerst effizienter Bestandteil der angeborenen Immunität und stellt eine zentrale und sehr frühe Immunbarriere dar.

Interessant ist, dass einzelne Oberflächenproteine von *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* oder auch *Trichophyton rubrum*, die sich hinsichtlich ihrer Struktur und Sequenz deutlich unterscheiden, dieselben Regulatoren aus dem Blut des Menschen binden können (Abbildung 3).

Ebenfalls von Interesse ist, dass einzelne Oberflächenproteine dieser unterschiedlichen Pilze gleichzeitig mehrere menschliche Immunregulatoren binden. Diese Immunregulatoren kommen im Blut und anderen Körperflüssigkeiten vor und werden so im gesamten Organismus verteilt. Diejenigen Wirtsproteine, welche an die Oberflächen von Hefen, Schimmelpilzen und Dermatophyten gebunden werden, sind unter anderem menschlichen Komplementregulatoren, wie Faktor H, das Faktor H ähnliche Protein FHL1 (Factor H like protein 1), das Faktor H verwandte Protein CFHR1 (Factor H related protein 1), das C4 bindende Protein (C4BP), sowie die inaktive Form der Protease Plasminogen (Abbildung 3).

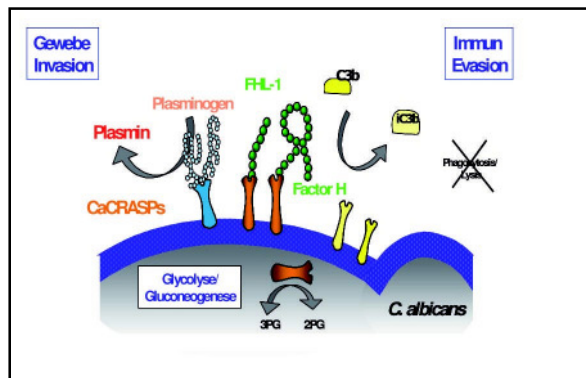


Abb. 3: Die humanpathogene Hefe *Candida albicans* exprimiert spezifisch Oberflächenproteine (Rezeptoren) mit denen sie unterschiedlich Proteine des Wirtes bindet. Die an die Oberfläche der Hefe gebundenen Wirtsproteine sind funktionelle aktiv und tragen wesentlich zum Überleben und zur Immunevasion der Hefe bei. Ebenfalls kann durch gebundene Proteasen für die Gewebeinvasion und die Zerstörung des Bindegewebes und der Extrazellulären Matrix beitragen. (© PF. Zipfel)

Die aktuellen Forschungsarbeiten in der Immunmykologie beinhalten die Identifizierung derartiger Oberflächenproteine dieser unterschiedlichen humanpathogenen Pilze sowie die Isolierung und Klonierung der jeweiligen Gene (Abbildung 3). So ist es möglich, die entsprechenden Proteine im Labor herzustellen (rekombinante Expression) und spezifische Werkzeuge in Form von Antikörpermolekülen zu generieren, welche es erlauben, den Zeitpunkt der Bildung und die Stärke der Bindung dieser Oberflächenproteine im Verlauf der Infektion zu verfolgen. Für weitere Untersuchungen mit derartigen Proteinen und Genen ist die Darstellung des Bildungszeitpunktes im Verlauf der Pilzinfektion notwendig, ob diese Proteine in besonderem Maße mit der Infektion und mit dem Auftreten der Erkrankung einhergehen. Dabei ist der Übergang von der zellulären Wachstumsphase zur Hyphen-Form von besonderem Interesse. Aufgrund ihrer konservierten Eigenschaften werden diese Oberflächenproteine, welche die Immun- und Komplementevasion vermitteln, als „Complement Regulator Acquiring Surface Proteins“ bezeichnet.

Derartige Forschungsarbeiten zeigen, dass viele der humanpathogenen Pilze ähnliche oder die selben Immunevasionsstrategien einsetzen. Es ist deshalb von großem Interesse, dieses Wechselspiel zwischen infektiösen Erregern wie Pilzen und dem Menschen darzustellen und die einzelnen Komponenten zu identifizieren. So ist es dann möglich, diese Proteine mit modernen Methoden wie Molekularbiologie, Proteinchemie und Immunchemie umfassend funktionell zu untersuchen. Da diese Proteine darüber hinaus einen wichtigen Beitrag zur Infektionsfähigkeit (Virulenz) der Erreger vermitteln, stellen die einzelnen CRASP Proteine neuartige Virulenzfaktoren von Pilzen dar. Diese neuartige Immunevasionsstrategie wird auch von weiteren humanpathogenen Pilzen, wie z.B. *Arthroderma benhamii* genutzt und stellt vermutlich ein allgemeines Prinzip der Immunevasion dar (Abbildung 4).

Aufgrund dieser Konservierung eignen sich diese CRASP Proteine als Zielstrukturen für eine verbesserte Pilzdiagnostik und erlauben langfristig möglicherweise auch verbesserte Therapien von Pilzinfektionen.

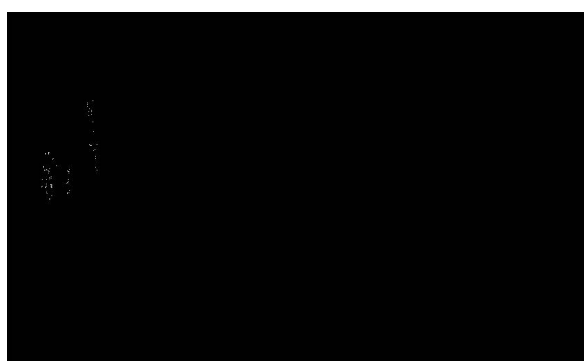


Abb. 4: Immunevasion des Dermatophyten *Arthroderma benhamiae* mit menschlichen Plasmaproteinen. Der Dermatophyt bindet mehrere Regulator-Proteine des Wirtes an die Oberfläche. Dadurch ist der Pilz in der Lage der Immunerkennung zu entgehen und zusätzlich ermöglichen die gebundenen Protease das Gewebe zu degradieren, was die Ausbreitung im Wirt wesentlich erleichtert (© S. Schindler und PF. Zipfel)

Literatur

The Mycota Volume VI: Human and Animal Relationships Brakhage A. A. und Zipfel P. F. eds, Springer, 2008

Poltermann S., Kunert A., von der Heide M., Eck R., Hartmann A., Zipfel PF, 2007
Gpm1p is a Factor H, FHL-1 and Plasminogen-Binding Surface Protein of Candida albicans.
J Biol Chem. 282: 37537-37544

Behnsen J., Hartmann A., Schmalzer J., Gehrke A., Brakhage A. A., Zipfel P. .F, 2008

The opportunistic human pathogenic fungus Aspergillus fumigatus evades the host complement system. *Infect Immun.* 76: 820-827

Zipfel P. F., Schindler .S, Reuter M., Gropp K., Skerka C-Candida and Complement, in: *The Mycota, Animal Host Relationships VI*, A. A. Brakhage, P. F. Zipfel, eds, Springer Verlag, 2008
