

Mikroorganizmusok fagocitaellenes védekezésének molekuláris mechanizmusai

Molecular mechanisms underlying the antiphagocytic defence of microorganisms

Rada Balázs ^{1,2}

¹ Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, 1088 Budapest, Puskin u. 9., Pf. 259

² National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Laboratory of Host Defenses, 12441 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852, USA, E-mail: radab@mail.nih.gov

Összefoglalás

A patogén mikroorganizmusok és az ember között létezésünk kezdete óta állandó harc folyik. Az emberi szervezet immunrendszerének szerepe a test saját sejtjeinek védelme a külső betolakodókkal szemben. A legtöbb esetben sikerül is az idegen élőlényeket elpusztítani, ám néhány esetben mégis a vírusok, baktériumok, protozoák győznek. A baktériumok győzelmének kulcsa legtöbbször az, ahogyan elkerülik, hogy a természetes immunrendszer falósejtjei elpusztítsák őket. Ezt számos, ötletes stratégiával sikerül elérniük. Közülük néhánynak már a molekuláris háttere is ismert.

A kórokozók gazdaszervezet-beli túlélésének egyik lehetősége, hogy a test olyan területein telepsznek meg, ahova a fagociták nem jutnak el (bőrfelszín, húgyhólyag, egyes mirigyek belső tere). Más mikroorganizmusok álcázzák magukat, elfedik idegen felszínüket az emberi szervezetben sajátként azonosított anyagokkal, és így elkerülik, hogy az immunrendszer sejtjei és molekulái felismerjék őket. Ezt a trükköt alkalmazza a *Staphylococcus aureus*, ugyanis sejthez kötött koaguláz enzime vérlavadást indukál, és így az alvadék befedi a baktérium felszínét. A vérbajt okozó *Treponema pallidum* pedig fibronektint köt meg a felszínén.

Indukált fagocitózis

Jól bevált módszer, hogy a baktériumok a test más, nem az immunrendszerhez tartozó sejtjeibe vetetik

Rada, B. K. ^{1,2}

¹ Semmelweis University, Department of Physiology, H-1088 Budapest, Puskin u. 9., POB 259, Hungary

² National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Laboratory of Host Defenses, 12441 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852, USA, E-mail: radab@mail.nih.gov

Summary

Since the beginning of our existence there has been a continuous fight between pathogenic microorganisms and man. The role of the human body's immune system is protection of our own cells against outside invaders. In most cases it succeeds to destroy the foreign creatures but sometimes the viruses, bacteria and protozoa win. The key element of the victory of bacteria is mostly the evasion of destruction by phagocytes of the innate immune system. They manage it by means of several tricky strategies. In some cases the molecular basis for evasion of these innate immune defense systems is already known.

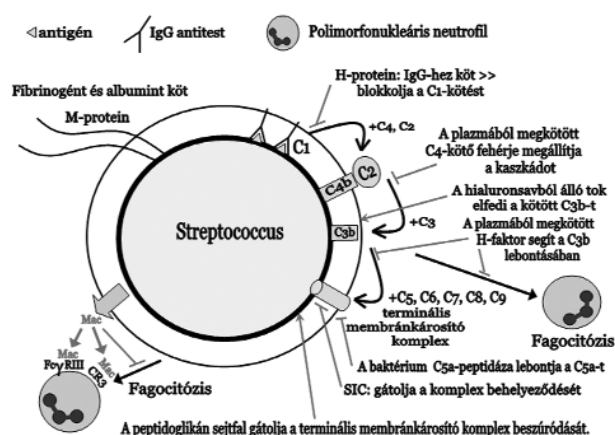
fel magukat indukált fagocitózissal. Erre jó példát szolgáltatnak a vérhast okozó, Gram-negatív Shigella-fajok. A bélbe bejutott baktériumok fagocitózisra készítetik a vastagbélhámsejteket. Ennek módja azonban nem a klasszikus „cipzár-modell”, hanem makropinocitózis. Ekkor a virulencia-plazmidon kódolt és a bélhámsejtekbe bejuttatott, effektor fehérjék a citoszkeleton átalakítását eredményező jelátviteli folyamatokat indítanak meg a célsejtben, amelyek filo- és lamellipodiumok megjelenését vonják maguk után a sejtfelszínen. Így a kórokozó nagyobb mennyiségű extracelluláris folyadékkal együtt kerül be a fagoszómába, miután a keletkezett membránkitüremkedések körbeölelték. Shigellák esetében eddig három végrehajtó fehérjét sikerült azonosítani. Az IpaC jelű fehérje más funkcióin kívül az aktinpolimeri-

záció kiváltásáért is felelős. Az IpaA nevű faktor a bélsejtek vinculinmolekuláihoz kötődik és aktiválja azokat. Ennek eredményeképpen az aktinfilamentumok átszerveződnek, és megjelenik a fagocitotikus csésze. Az IpgD effektor foszfatidil-inozitol-foszfátáz-aktivitással rendelkezik, ami valószínűleg a sejtmembrán–citoszkeleton közötti kapcsolat relaxációját biztosítja, így az aktinpolimerizáció folyamatát segíti elő a belépés kezdetén. A sejtvezérlés működésének befolyásolását a bakteriális proteinek számos fehérje (src-kináz, a Rho család kis G-fehérjei) aktivációján/deaktivációján keresztül éri el.

A fehérvérsejtek kemotaxisának módosítása

Bizonyos patogének a fagocitasejtek kemotaxisát befolyásolják. Az A-típusú *Streptococcus*ok felszínén található C5a-peptidáz a C5a kemotaktikus faktort bontja el (1. ábra). A C5a a baktérium felszínén a komplementaktiváció folyamán keletkezik, és neutrofil granulociták helyszínre csalogatásáért felelős – degradációja ezért késlelteti a fehérvérsejtek megérkezését. *Mycobacterium*- és *Clostridium*-fajok is élnek a kemotaxis késleltetésének taktikájával.

Meglepő módon néhány mikroba túlélésének kulcsa nem a leukociták kemotaxisának gátlása, hanem – éppen ellenkezőleg – annak elősegítése. Hogyan is növelheti ez a kórokozó túlélésének esélyeit? Nagyon érdekes példát szolgáltatnak erre a kala-azar, a bőr- és a nyálkahártya-leishmaniasis kórképéért felelős *Leishmania*-fajok (2. ábra). Eme ostoros egysejtűek promasztigóta alakjai a szervezetbe hatolás helyén egy kemotaktikus vegyület, az *Leishmania* kemotaktikus faktor (LCF) termelésébe kezdenek. Ez vonzza a neutrofileket,



1. ábra *Streptococcus*ok fagocitaellenes mechanizmusai. Az A-típusú *Streptococcus* baktériumok számos szekretált és felszíni fehérjével, ellenálló tokkal akadályozzák meg, hogy elkerüljék a komplementrendszer és a falósejteket.

de nem hat a monocitákra és az NK-sejtekre. A *Leishmania*-fertőzés neutrofilekben az interleukin-8 (IL-8) nagymértékű termelését indukálja, amely kemotaktikus hatásánál fogva még több granulocitát vonz a helyszínre (2. ábra). Így pozitív visszacsatolással rövid időn belül számos neutrofil jelenik meg az egysejtűek közelében. A megérkezett neutrofilek bekebelezik a protozoákat, a behatolók elpusztítására azonban nem képesek. Mindezen folyamatok eredményeképpen az egysejtűek hamar bekerülnek a fehérvérsejtekbe, és elbújnak az immunrendszer egyéb elemei elől. Ez annyiban speciális eset, hogy a menedékként használt gazdasejt nem egy védelmi funkcióval nem rendelkező testi sejt (mint a korábban említett endotél- vagy epitelsejtek), hanem az immunrendszer hivatásos, baktériumölő falósejtje. A granulociták rövid életű sejtek, életciklusuk természetes része, hogy küldetésük végén programozott sejthalállal pusztulnak el. A *Leishmaniák* a



Rada Balázs 1998-ban végzett biológusként az Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Karán. 1999 és 2005 között a Semmelweis Egyetem Élettani Intézetében dolgozott, eleinte az egyetem Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskolájának nappali tagozatos hallgatójaként, majd az intézet akadémiai munkacsoportjának tagjaként. Gyakorlatvezetőként részt vett az intézet magyar és német nyelvű oktatásában. Doktori munkáját 2004-ben védte meg „A NADPH-oxidáz szerepe neutrofil granulociták kalcium-anyagcseréjében és baktériumölésében” címmel. 2005 szeptembere óta az Egyesült Államok *National Institutes of Health* kutatóintézetében dolgozik posztdoktori ösztöndíjasként. Érdeklődési témái: a NOX-család enzimeinek a veleszületett immunitásban betöltött szerepe, illetve mikroorganizmusok túlélési stratégiái az emberi szervezetben.

kaszpáz-3-aktivitását csökkentve késleltetik neutrofilek apoptózisát, és így érik el, hogy 2–3 napig a neutrofilekben vendégeskedhessenek. Hosszabb távon viszont újabb gazdák után kell nézniük. Néhány mikroba (így a *Leishmania* is) képes ugyan az apoptózis folyamatát neutrofilekben késleltetni, de eddig mindössze egyetlen baktériumcsoportról, az Ehrlichiáról bizonyították be, hogy a neutrofilek a végleges gazdasejtjeik. A *Leishmania*-fertőzés neutrofilekben gátolja az interferon- γ termelését, ezért az NK-sejtek és az 1-es típusú Th-limfociták késleltetve érkeznek a fertőzés helyére. Ugyanakkor serkentik a makrofág gyulladásos fehérjék (MIP), a MIP-1 α és MIP-1 β szekrécióját, emiatt a fagociták második hullámként makrofágok érkeznek a helyszínre. A makrofágok bekebelezik az apoptotizált granulocitákat, és ezzel a Leishmaniák – a neutrofileket csak mint trójai falovat használva [1] – végleges gazdáikba, a makrofágokba jutnak (2. ábra).

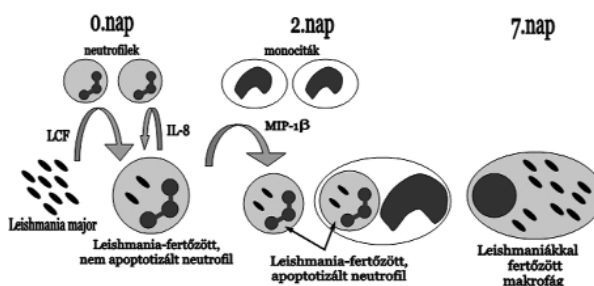
A fagocitózis gátlása

Az előző, fagocitózist kiváltó stratégiákkal szemben a mikrobák többsége éppen annak megakadályozására törekszik, hogy a fagociták bekebelezék őket. Az A-típusú *Streptococcus*ok nagyon jó példái ennek, ugyanis ezek a baktériumok számos eszközzel képesek fagocitózisukat meggátolni (1. ábra). Gram-pozitív mikrobák lévén 100–120 nm vastag peptidoglikán sejfallal rendelkeznek, ami már eleve megvédi őket a komplementrendszer C5, C6, C7, C8 és C9 fehérjeiből álló, terminális membránkárosító komplexétől. A baktériumok külső felszínén található meg egy fontos virulenciafaktor, az M-protein, amely egy α -helikális szerkezetű, két polipeptidláncból álló molekula. Ez a fehérje albumin, fibrinogén és néhány más plazmafehérje megkötésére képes. Ezzel a molekuláris mimikriával a baktérium elrejtí az idegen felszínét az immunrendszer falósejtjei és komplementrendszerére elől.

A *Streptococcus*ok harmadik védelmi vonalaként számos felszíni fehérje szolgál, amelyek a komplementaktiváció több helyén avatkoznak be (1. ábra). Bakteriális fehérjék kapcsolódnak a prokarióta sejt felszínét felismert immunglobulinokhoz, megakadályozva ezzel a komplementkaskád első, C1 komponensének kötődését és így a komplementrendszer aktiválódását. Az M-protein a

plazmából komplementinaktiváló faktorokat (C4-kötő fehérje, H-faktor) is megköt, melyek elősegítik a C3b és C4b lebomlását. A baktériumsejtet hialuronsavból álló tok veszi körül, amely megnehezíti a C3b fragmens kötődését. Miután a C3b (és az iC3b is) fontos opszonin, amelyek felismerésére a falósejtek specifikus receptorokkal rendelkeznek, ez utóbbi két lépés gátolja a kórokozók megjelölését és fagocitózist. Mindössze néhány éve felfedezett újabb *Streptococcus*-virulenciafaktor, a szekretált Mac-fehérje a fagociták felszínén található és az iC3b komplementfragment felismeréséért felelős 3-as típusú komplementreceptor (CR3) α -láncához, a CD11b-hez kötődik, és annak működését gátolja [2]. Ugyanez a fehérje blokkolja az egyik, az immunglobulin-G felismeréséért felelős receptort (Fc γ RIII) is, így nemcsak a baktérium komplementfüggő, hanem az IgG-közvetített fagocitózist is kivédi. Az *Streptococcus*-eredetű komplementgátló (SIC) fehérje a membránkárosító komplexhez kötődve meggátolja annak behelyeződését a baktérium membránjába (1. ábra).

A fagocitózist gátló polisaccharidtokkal – a *Streptococcus*ok mellett még – számos mikrobafaj rendelkezik: pl. a *Haemophilus influenzae*, a *Treponema pallidum*, a *Klebsiella pneumoniae*, valamint a *Cryptococcus neoformans*. Staphylococcusok sejthez kötött és szolubilis protein-A-molekulái az IgG antitestek Fc-régiójához kötődve védik ki az antitest opszonizáló hatását. Más baktériumok



2. ábra *Leishmania major* – a „trójai faló hipotézis”. A baktériumok neutrofil granulocitákat használnak fel bejutásukhoz végleges gazdasejtjeikbe, a makrofágokba. Neutrofilekben gyorsítják a fagocitózist, kivélik az oxidatív támadást, késleltetik az apoptózist és növelik az IL-8-termelést. Emiatt bennük túlélnek, és még újabb neutrofileket vonzanak a helyszínre. Az apoptotizált neutrofileket és velük együtt a *Leishmania*-sejteket végül makrofágok fagocitálják [1]. LCF: *Leishmania* kemotaktikus faktor; IL-8: interleukin-8; MIP-1 β : makrofág gyulladásos protein 1 β .

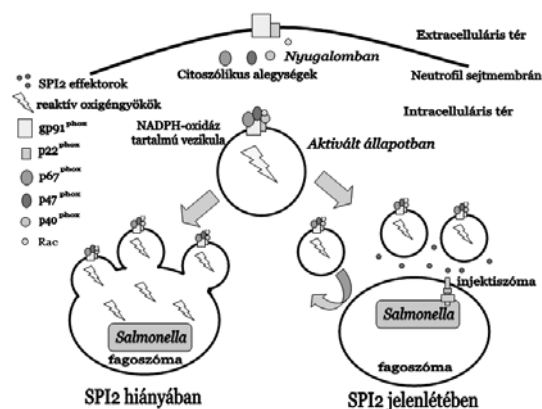
plazmidon kódolt szekréciós apparátussal juttatnak be végrehajtó fehérjét az immunsejtekbe, és a jelátvitel több pontján beavatkozva védik ki bekebelezésüket és elpusztításukat.

Intracelluláris paraziták

Mikrobák népes társasága képes falósejtekben hosszabb ideig túlélni, sőt még szaporodni is. Ezek a mikroorganizmusok a fehérvérsejtek obligát vagy fakultatív, sejten belüli élősködői. Többféle megoldás született az evolúció során arra, hogy hogyan védhetik ki, illetve kerülhetik meg ezek a baktériumok, gombák és egysejtűek a fehérvérsejtek antibakteriális anyagainak pusztító hatását.

Néhányan azt az utat választják, hogy nem várják meg, míg a fagoszóma a leukociták lizoszómáival fuzionál, hanem fagocitózisuk után rövid időn belül elhagyják a fagoszómát, a citoplazmába lépnek be, és ezzel megmenekülnek a lizoszomális enzimek és gyökök támadásától. Így cselekednek – fagocita és nem fagocita sejtekben egyaránt – a már korábban említett Shigellák. A baktérium egyik felszíni fehérjeje, az IcsA felelős azért, hogy a fagoszóma elhagyása után a patogén a gazdasejt citoskeletonjának segítségével halad előre a citoplazmában, illetve jut át a szomszédos hámsejtekbe. Ez a fehérje aktinpolimerizációt indukál a baktérium közelében, ami előrehajtja őt a plazmában. Ez a jelenség fluoreszcens vagy elektronmikroszkópos felvételeken jól láthatóvá tehető, és mint a baktériumsejt mögötti aktincsóva vagy aktinüstök figyelhető meg.

A Shigellák ezzel a bélhámsejteket használják búvóhelyként. Számos baktériumot azonban nem bélhámsejtek, hanem makrofágok fagocitálnak, amelyek megölésükre azonban nem képesek, mert a kórokozók a kaszpáz-1 aktiválásán keresztül apoptózisra készítetik a falósejteket. Az elpusztult makrofágokból kiszabaduló baktériumok pedig újfent a bélhámsejteket fertőzik meg. A Shigella-fertőzött makrofágok nagy mennyiségű IL-1 β - és IL-18-molekulát termelnek, ami a gyulladásos folyamat elindulását eredményezi a baktériumok behatolásának helyén. A Shigellákon kívül még a Listeriára és a Rickettsiákra jellemző, hogy képesek aktincsóvával a gazdasejten belüli előrehaladásra. A Rickettsiák obligát sejten belüli élősködők – szemben a Listeriával és a Shigellákkal –, mindig az



3. ábra A *Salmonella* baktérium gátolja a granulum-fagoszóma fúzióját. Nyugalmi körülmények között a NADPH oxidáz alegységei a sejt- és granulummembránban (gp91^{phox}, p22^{phox}), illetve a citoplazmában (Rac, p67^{phox}, p47^{phox}, p40^{phox}) találhatók meg. Partikuláris stimulus (pl. fagocitált baktériumsejt) hatására a citoszolikus alegységek kihelyeződnek a membránalegységekhez, összeszerelődik az enzimkomplex, és megindul a szabadgyök-termelés az intrafagoszómális térbe. Az SPI2 plazmidon kódolt 3-as típusú szekréciós rendszer effektorai megakadályozzák a NADPH oxidáz tartalmú granulumok összeolvadását a fagoszómával, így védi ki a baktérium a fehérvérsejt oxidatív támadását.

egyik sejtről a másikra vándorolva fertőznek tovább.

A sejten belüli túlélés másik lehetséges megoldása az, ha a kórokozó képes a fagoszóma–lizoszóma (granulum) fúziójának megakadályozására. Így a falósejtek patogénkárosító anyagai nem találkoznak a betolakodóval, és az eredetileg életveszélyesnek szánt fagoszóma egy, az immunrendszer vigyázó szemei elől elrejtett, biztonságos fiúlkévé válik. Ezt a taktikát számtalan kórokozó alkalmazza. Az egyik legjobban ismert példát a *Salmonella*-fajok szolgáltatják (3. ábra). Ezek a baktériumok általában a bél felől támadják meg szervezetünket. A Shigellákhoz hasonlóan indukált makropinocitózissal vetetik fel magukat a bélhámsejtekbe. Ebben az SPI-1 nevű virulenciaplazmidon kódolt fehérjék döntő fontosságúak [3]. A baktériumokat falósejtek, főleg makrofágok is bekebelezik a bélnyálkahártyában. A falósejtek egyik leghatásosabb antimikrobiális fegyvere, hogy a fagoszómába jutott baktériumot reaktív szabad gyökökkel támadják meg. A reaktív szabad vagy oxigéngyökök képzésének kulcsenzime a NADPH-oxidáz, amely a makrofágok lizoszómáinak, illetve a neutrofil granulociták némely granulumainak membrán-

jában is megtalálható. A fagocitózist követően – ideális esetben – a fagoszóma összeolvad a lizoszómával, a citoszolikus alegységek membránhoz helyeződésével aktiválódik a NADPH-oxidáz, és oxigénmolekulákból szuperoxid-anionokat képez (3. ábra). A O_2 -anionok önmagukban csak gyenge baktériumkárosító hatással bírnak, de a belőlük keletkező, illetve a segítségükkel nitrogén-monoxidból létrejövő, további gyökök (hidrogén-peroxid, hipoklórossav, peroxi-nitrit) már nagyon reakcióképesek, és a baktériumok anyagainak széles spektrumával reakcióba lépve károsítják azokat.

Salmonella baktériumok elpusztításához szükség van az oxidatív ölü mechanizmusokra, amit az is bizonyít, hogy a NADPH-oxidáz veleszületett hiányában, krónikus granulomatózisban szenvedő betegekben a Salmonellák gyakran okoznak fertőzéseket. Nem csoda, ha a baktériumok igyekeznek elkerülni ezt az oxidatív támadást. Ebben segíti őket egy másik, SPI-2 nevű géncsoport, amelyek effektorfehérjéket és az ő célsejtbe juttatásukért felelős szerkezeti fehérjéket kódolnak. Ez a patogenitási sziget csak akkor aktiválódik a baktériumokban, amikor azokat már bekebelezték a makrofágok. Az SPI-2 gének aktiválódásának eredménye, hogy a fagoszóma nem fuzionál a NADPH-oxidázt tartalmazó lizoszómákkal (3. ábra). Ennek pontos mechanizmusa még nem ismert. Biztos, hogy az egyik SPI-2 géntermék, az SPiC fehérje kell a folyamathoz, mert hiányában megtörténik az összeolvadás. Egy másik mechanizmus a sejtvázzal kapcsolatos. Normálisan ugyanis a citoszkeleton hamar leépül a fagocitózis végén, hogy lehetővé tegye a lizoszómának a fagoszómaéhoz történő hozzáférést. Salmonellákban bizonyított egy SPI-2-függő mechanizmus, amely késlelteti a fagocitózist követő aktindepolimerizációt és ezzel a granulumfúziót. A harmadik ismert tény, hogy a tumornekrozis faktor receptorával (TNF-R) nem rendelkező, génkiütött egerek sokkal fogékonyabbak a Salmonella-fertőzésre, makrofágjaik gyengébben ölik a baktériumokat és a NADPH-oxidázt tartalmazó granulumok fagoszómaival történő fúziója elmarad. Mindemellett oxigén- és nitrogéngyököképzésük normális, ezért ezek alapján felvethető, hogy a TNF-receptoron keresztüli szignalizáció fontos a lizoszómák célba juttatásában, és hogy a Salmonella baktériumok egyik SPI-2 faktora ebbe a jelátviteli útba avatkozik bele [3]. Mycobak-

tériumok és Legionellák is ezt a stratégiát alkalmazzák.

A falósejteken belüli túlélés és szaporodás további lehetősége, hogy a felvett mikroorganizmusok a fehérvérsejt támadóeszközei közül semlegesítenek többet-kevesebbet. A fagoszómaival ebben az esetben egyesülnek a lizoszómák. Egyes mikrobák (*Leishmania donovani*, *Legionella pneumophila*, *Plasmodium falciparum*) a NADPH-oxidáz enzim összeépülését akadályozzák meg azáltal, hogy az aktivációhoz szükséges protein-kináz C enzimet gátolják. A humán ehrlichiosis kórokozója, az *Anaplasma phagocytophila* baktérium kizárólagos gazdasejtjei emberben a neutrofil granulociták. Túlélésük kulcsa, hogy kivédi a fehérvérsejtek oxidatív stresszét. A *Salmonella typhimurium* baktérium virulenciájának egyik fontos tényezője, hogy több szuperoxid diszmutáz enzimet is termel. Közös jellemzőjük, hogy a NADPH-oxidáz által termelt szuperoxid-anionokat alakítják át hidrogén-peroxiddá, amely membránpermeábilis, tiolokkal, hem-fehérjékkel, lipidekkel és DNS-sel reakcióba lépni képes oxidáns. Ugyanez a faj, de más patogének is rendelkeznek kataláz enzimekkel, amelyek a hidrogén-peroxidot vízzé és oxigénné képesek átalakítani, és ezáltal a szabad gyököket véglegesen semlegesíteni.

A mikrobiális DNS kimondottan fontos célpontja a szabad gyökök támadásának. Az oxigén- és nitrogéngyökök miatt keletkezett DNS-hibák kijavításán javítóenzimek dolgoznak. Hiányukban (pl. *Salmonella typhimurium* recA és recB, rekombinációdeficiens törzsei) a makrofágok sikeresen ölik meg a baktériumokat. *Escherichia coli*, illetve Salmonella-fajokban leírtak olyan géneket, amelyek kimondottan oxidatív támadás esetén aktiválódnak, és így a mikroorganizmusok a transzkripció szintjén válaszolnak. Szuperoxid az SoxRS fehérjét, míg hidrogén-peroxid az OxyR fehérjét oxidálja. Mindkét oxidált protein olyan gének promóter szakaszaihoz kötődik, amelyek az oxidatív stressz kivédésében szerepelnek.

A reaktív gyökök semlegesítésén túl más mikroorganizmusok a fehérvérsejtek egyéb támadó molekulái ellen is felvértezték magukat. A Mycobacterium mikolsavat tartalmazó, saválló sejtfa, illetve az anthraxbacilus poli-D-glutamátból felépülő tokja passzívan áll ellen a leukociták proteá-

zainak és kationos peptidjeinek. A Gram-negatív baktériumok külső membránja és tokja a lizozim peptidoglikánt bontó hatása ellen nyújt megfelelő védelmet. A mikrobák vaskötő fehérjéi (sziderofórok) vasat vonnak el a neutrofil granulocita fehérjéitől. Ezáltal részben a fehérvérsejt vaskötő fehérjéit, peptidjeit gátolják, részben pedig az anyagcseréjükhöz szükséges vasat szerzik így be.

Extracelluláris toxinok

A mikroorganizmusok által használt számtalan külső toxin közül itt mindössze csak néhányat említenék meg. A *Streptococcus*ok sztreptolizinje, illetve a *Staphylococcus*ok leukocidinje a fehérvérsejtek sejt- és granulummembránjainak lízisét eredményezi. Emiatt a granulumenzimok kiszabadulnak a citoszólba, és saját magát támadja meg ezzel a neutrofil. Az anthrax- vagy pertussistoxin károsítja a fagocitákat. Néhány bakteriális vegyület az immunrendszer antibakteriális peptidjeit támadja meg. Például a *Staphylococcus*ok staphylokináza az emberi szervezet α -defenzinjeivel képez komplexet, és így semlegesíti azokat. Szintén a *Staphylococcus*okra jellemző a toxikus sokszindrómatoxin termelése. Ez a vegyület szuperantigénnek számít. Kötődik az MHC II molekulákhoz az antigénprezentáló sejtek felszínén, amelyek nagyszámú T-sejtet kötnek meg, azok pedig afiziológián nagy mennyiségű interleukin-2 fehérjét termelnek.

Bakteriális szekréciós rendszerek

Baktériumok virulenciájának meghatározó tényezői azok az effektor molekulák, amelyeket a patogének célsejtjeikbe juttatnak be, hogy módosítsák működésüket. A baktériumsejteket az eukarióta sejtekkel ellentétben nem egyetlen membrán határolja, hanem változatos felépítésű és vastagságú sejtfal, illetve Gram-negatív baktériumok esetében még egy külső membrán is. A baktériumsejtnak ezeken a rétegeken keresztül nemcsak a virulenciájához szükséges faktorok kijuttatását kell biztosítani, hanem általában a környezetével folytatott anyagforgalmat is. A fehérjék transzportjának céljából különböző szekréciós rendszerek alakultak ki, amelyeket négy főbb típusba sorolunk. Az 1-es típus az ABC-transzporterek rendszerét jelenti, amely esetén az egy

vagy két membránon átívelő csatornán keresztül szállítódnak a fehérjék. A 2-es típus az általános szekréciós út (Sec-útvonal), melynek jellegzetessége, hogy szubsztrátumai már végleges szerkezettel rendelkező fehérjék. A szubsztrátfehérjék N-terminális végükön szignálszekvenciát hordoznak, mely Gram-negatív baktériumok esetén a periplazmatikus térben hasítódik le. A 3-as típusú szekréciós rendszerek a bakteriális ostor szerkezetével mutatnak hasonlóságot. A 4-es típusúak a baktériumok konjugációs apparátusával rokonok, és funkciójuk (1) DNS átjuttatása sejtek között sejt-sejt kapcsolattal, (2) effektor molekulák bejuttatása eukarióta célsejtbe, illetve (3) DNS-felvétel vagy -leadás a sejt és a külső közeg között. Az 1-es, 3-as és 4-es típusok esetén a fehérje egy lépésben, hasítatlanul jut ki a külső térbe. A 3-as típusú rendszer csak Gram-negatív baktériumokra jellemző, míg a többi mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív fajoknál előfordul.

A 2-es típusra jó példa a koleratoxin összeépülése és szekréciója (4. ábra). A toxin citoplazmában szintetizált A- és B-alegységei a belső membránon az egész élővilágban elforduló, általános szekréciós úton (Sec-útvonal) jutnak át, majd a periplazmatikus térben a DsbA fehérje segítségével veszik fel végleges szerkezetüket és állnak össze kész molekulává (AB₅ formáció) [4]. Ezek után a 2-es típusú szekréciós rendszer (Eps) a B₅-alegységen ismeri fel a szekréciós szignált. A toxin elfoglalja helyét a szekréciós pórusban, majd a külvilágba jut. A modellben a D-fehérje képezi a szekréciós pórust, míg az E-, L-, M-proteinek az extracelluláris szekréció szabályozásában szerepelnek; valószínűleg a külső és belső membránok közötti foszforiláció vagy ATP-hidrolízis formájában megvalósuló információátadással. A G jelű fehérje domináns részvételével épül fel egy pilushoz hasonló struktúra, amely dugattyúként nyomja ki a toxint a külvilágba a külső membrán szekréciós pórusán keresztül – többszörös relaxáció és összehúzódás ismétlődésével (4. ábra).

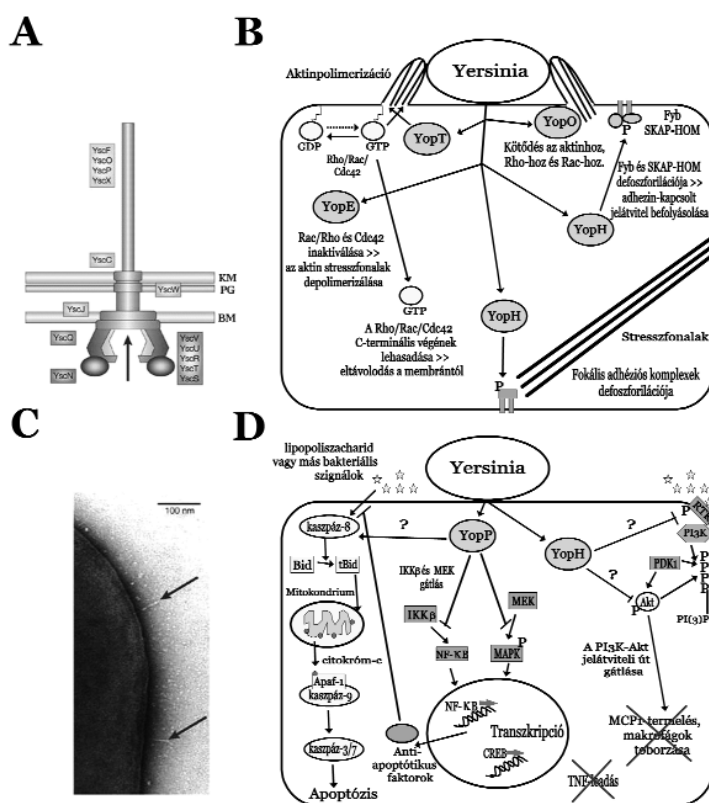
A 3-as típusú, csak Gram-negatív fajoknál előforduló, bonyolult rendszerek [5] a baktériumok citoplazmájából szekretálnak proteinek a belső és külső membránokon keresztül a külső térbe, vagy közvetlenül a gazdasejt sejtplazmájába. A 3-as típusú szekréciós rendszerek fehérjekomplexumokból felépülő, vékony, merev, üreges, túszerű szer-

4. ábra (lásd a címlapon) A patogén bakteriális szekréciós rendszerek egyes típusai. Balra fent: A koleratoxin összeépülése és szekréciója az Eps 2-es típusú szekréciós rendszeren keresztül *Vibrio cholerae* baktériumban [4]. A toxin A- és B-alegységei az általános szekréciós útvonalon (Sec-út) jutnak át a belső membránon (BM) a periplazmatikus térbe (PP). Itt szerelődnek össze a végleges, több alegységes toxinná (AB₅). A számos fehérjéből felépülő, 2-es típusú szekréciós rendszer (Eps) segítségével jutnak át a külső membránon (KM) az extracelluláris térbe (EC). Az A-, B-, N-fehérjék itt részt vesznek ugyan a komplex felépítésében, de nem minden baktériumban szükségesek a sikeres szekrécióhoz. Jobbra lent: A 3-as típusú szekréciós rendszer (TTSS) felépítése [5,6]. A csak a Gram-negatív baktériumokban előforduló TTSS rendszer szerkezeti és funkcionális hasonlóságot mutat a bakteriális flagellummal. EC: extracelluláris tér; KM: külső membrán; PG: peptidoglikán (sejtfal); BM: belső membrán.

kezetek [6], amelyek a bakteriális ostorok bazális testjeihez hasonló struktúrákkal vannak kihorgonyozva sejthártyához (4. ábra). Minthogy ezek a rendszerek képesek mind az ostort felépítő szerkezeti fehérjék, mind a patogenezisben fontos, extracelluláris fehérjék kijuttatásának katalízisére, ezért a 3-as típusú szekréciós rendszerek (TTSS)

és az ostort felépítő szerkezet (Fla-rendszer) működésükben nagyon hasonlóak. Míg a TTSS-ek gyakran mobil plazmidokon (patogenitási szigetek) kódolódnak és baktériumok között horizontális géntranszferrel is átadódhatnak, addig az ostort létrehozó rendszerek legtöbbször kromoszomálisan kódoltak, és csak vertikálisan adódhatnak tovább. A 3-as típusú szekréciós rendszerek számos Gram-negatív baktérium patomechanizmusának részei: *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, a *Salmonella*, *Shigella* és *Erwinia* genusok fajai.

Ezek közül az egyik legjobban ismert a *Yersinia* baktériumok „injekciós tűje” (5. ábra, C). Ennek a 3-as típusú szekréciós rendszernek a neve Ysc-Yop-rendszer. Az „injekciós tűt” (más néven injekti-szómát) a *Yersinia* szekréciós (Ysc) apparátusa, míg a szekretált effektor fehérjéket a *Yersinia* külső fehérje (Yop) apparátusa jelenti. A *Yersinia* baktériumok felszínén – testhőmérsékleten – a szekréciós



5. ábra A *Yersinia* baktériumok Yop-Ysc szekréciós rendszere. (A) Az injekti-szóma felépítése. KM: külső membrán; PG: peptidoglikán; BM: belső membrán. (B) A fagocitózist gátló és a citoskeletonra ható Yop-fehérjék célpontjai. (C) *Yersinia enterocolitica* baktérium felszínéből kinyúló injekti-szómák elektronmikroszkópos képe. (D) A Yop-fehérjék gyulladásgátló hatásainak összefoglalása [7]. RTK: azonosítatlan receptor tirozin kináz; Apaf-1: apoptotikus proteázaktiváló faktor-1.

apparátus számos példányban jelenik meg. Az injekciós tű alapja a bakteriális peptidoglikán sejtfalat és a két membránt is átívelő bazális test, amely egy, a baktérium felszínéből kinyúló, tűszerű struktúrában végződik (5. ábra, A). A bazális test legfelsőbb része a fehérjepumpa, melynek egyik legfontosabb alkotórésze az YscN fehérje, egy ATP-áz. A bazális test külső része egy gyűrű alakú szerkezet (belső pórusának átmérője mintegy 5 nm), amely az YscC fehérje polimerizációjából jön létre. Az injektizóma tűjének hossza 60–80 nm, külső átmérője 6–7 nm, míg üregének belső átmérője mindössze 2 nm. Maga a tű a 6 kDa molekulatömegű YscF fehérje polimerizációjából jön létre. Általánosan elfogadott, hogy az injektizóma elég a Yop végrehajtó fehérjéknek a baktériumból a külvilágba, de nem elegendő az eukarióta célsejtbe történő juttatásához. Ez utóbbi lépéshez szükség van három Yop-transzlokátor fehérje (YopB, YopD, LcrV) jelenlétére, amelyek a célsejt membránjában pórust képezve képesek a Yop-csoport további fehérjeinek, az effektoroknak a bejuttatására [7].

Az eddig megismert 6 effektor közül négy (YopE, YopO, YopT és YopH) a citoszkeleton működésének befolyásolásán keresztül blokkolja a fagocitózist (5. ábra, B). Közülük az első három a Rho-család kis G-fehérjéin hat. A YopT a Rho-család fehérjeit helyezi át a membrántól a citoszólba, ezáltal az aktin-depolimerizációt segíti elő. A YopO szerin/treonin kináz, mely csak aktinhoz kötött formában aktív. Szubsztrátuma lehet maga az aktin, illetve a RhoA és a Rac. A YopH nagyon hatásos tirozin foszfatáz, mely szétrombolja a fokális adhézioakat a létrejöttükben fontos fehérjék defoszforilálásán keresztül (5. ábra, B). Defoszforilálja továbbá makrofágokban az adhézió során egymással kölcsönható és foszforilálódó Fyb (Fyn-kötő protein) és SKAP-HOM fehérjéket; ezúton beavatkozva az adhézió kiváltotta jelátvitelbe. Bármelyik is hiányzik a fagocitózis blokkolásában fontos négy Yop közül, neutrofilek, illetve makrofágok könnyedén bekebelezik a baktériumokat; ami azt jelzi, hogy mind a négy effektor egyaránt fontos az antifagocita hatás kifejtésében. A fagocitózisgátló hatásán túl a YopH gátolja a PI3K/Akt-út vonalat (5. ábra, D). Így csökkenti a monocita kemotaktikus faktor 1 (MCP1) szintézisét, és ezáltal a gyulladásos folyamat menetét lassítja. Minthogy a PI3K/Akt-jelátviteli út a limfocitaproliferációt kontrollálja, a YopH lehet felelős a T-sejtek

csökkent citokintermeléséért, valamint a B-sejtekben a B7.2-molekula redukált mértékű sejt felszíni expressziójáért. Eképpen a YopH nemcsak a veleszületett immunrendszer működését gátolja a fagocitózis blokkolásán keresztül, hanem az adaptív immunválaszt is kikapcsolja [7].

Egy másik, még erősebb gyulladásgátló hatással bíró Yop a YopP, mely csökkenti makrofágok TNF-, epi- és endotélsejtek IL-8-termelését (5. ábra, D). Szintén redukálja különböző adhézio molekulák (ICAM 1 és E-szelektin) endotélsejt-felszíni prezentációját, ezáltal késlelteti neutrofilek megérkezését a gyulladás helyszínére. Mindezen hatások az NF- κ B transzkripció faktor aktivitásának a gátlásából származnak. Eme hatásain túl a YopP gátolja a JNK, p38, ERK1 és ERK2 MAP kinázokat is. A MAP-kináz-út vonal gátlása megszünteti a gyulladásos folyamat szabályozásában fontos szerepet betöltő másik transzkripció faktor, a CREB foszforilációját. A YopP eme két mechanizmussal több mint 30 makrofággén expresszióját módosítja (5. ábra, D). A YopP ezen felül apoptózist indukál makrofágokban.

Összefoglalás

A patogén mikroorganizmusok trükkök seregét fejlesztették ki az evolúció során az eukarióta szervezetek ellen. A természetes és a szerzett immunrendszer sejtjeinek működésében temérdek helyen beavatkozva érik el, hogy testünkben megtelepedhessenek. Eme folyamatok kutatása elengedhetetlen a fertőző betegségek minél pontosabb, molekuláris szintű megismeréséhez és az ellenük történő sikeres fellépéshez.

Irodalomjegyzék

- [1] Laskay, T., van Zandbergen, G., Solbach, W. (2003) Neutrophil granulocytes – Trojan horses for *Leishmania major* and other intracellular microbes? *Trends Microbiol.*, **11**: 210–214.
- [2] Lei, B., DeLeo, F. R., Musser, J. M. (2001) Evasion of human innate and acquired immunity by a bacterial homolog of CD11b that inhibits opsonophagocytosis. *Nature Med.*, **7**: 1298–1305.
- [3] Vazquez-Torres, A., Fang, F. C. (2001) Salmonella evasion of the NADPH phagocyte oxidase. *Microbes Infect.*, **3**: 1313–1320.
- [4] Sandkvist, M. (2001) Biology of type II secretion. *Mol. Microbiol.*, **4**: 271–283.
- [5] Saier, M. H., Jr. (2004) Evolution of bacterial type III protein secretion systems. *Trends Microbiol.*, **12**: 113–115.
- [6] Kymbrough, T. G., Miller, S. I. (2002) Assembly of the type III secretion needle complex of *Salmonella typhimurium*. *Microbes Infect.*, **4**: 75–82.
- [7] Cornelis, G. R. (2002) The *Yersinia* YSC-YOP 'type III' weaponry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **3**: 742–752.