Universiteit Leiden
The Netherlands

Typ-VII-Sekretionssysteme: Ziele gegen Tuberkulose

Geibel, S.R.J.

Citation

Geibel, S. R. J. (2022). Typ-VII-Sekretionssysteme: Ziele gegen Tuberkulose. *Biospektrum*, *28*, 128-131. doi:10.1007/s12268-022-1713-x

Version:	Publisher's Version
License:	Creative Commons CC BY 4.0 license
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/3717853

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Antibiotikaentwicklung

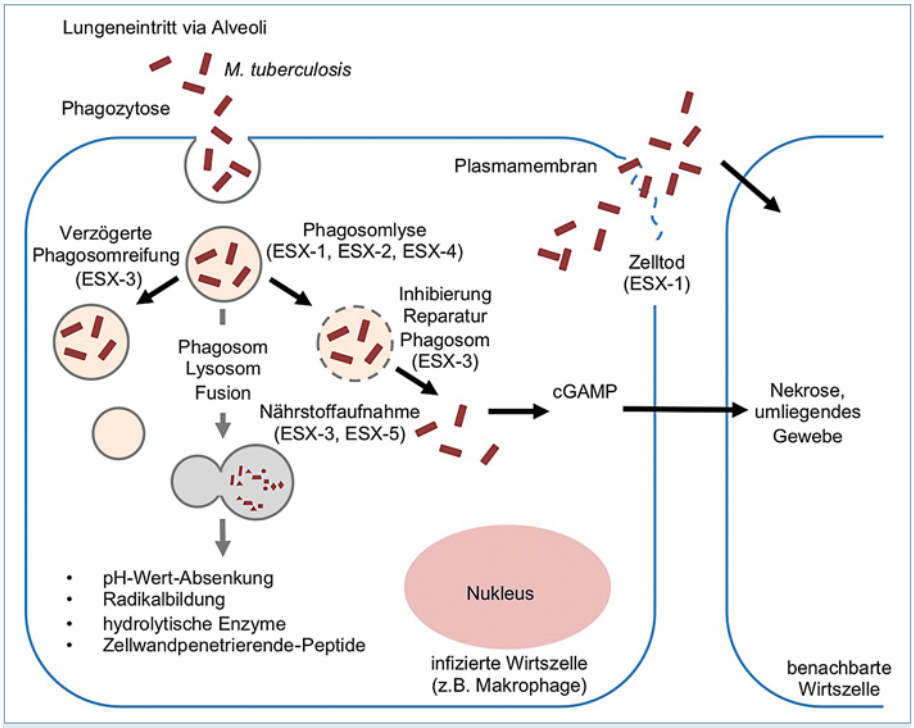
Typ-VII-Sekretionssysteme: Ziele gegen Tuberkulose

SEBASTIAN GEIBEL
LEIDEN INSTITUTE OF CHEMISTRY, UNIVERSITÄT LEIDEN, NIEDERLANDE

To facilitate host infection, tuberculosis-causing mycobacteria employ five type VII secretion systems (T7SS) to orchestrate the timely secretion of effector proteins, which play central roles in their immune evasion strategy and ensure the uptake of essential nutrients. This article reviews our current structural and functional understanding of mycobacterial T7SS and discusses their potential as targets for novel antimicrobial strategies.

DOI: 10.1007/s12268-022-1713-x
© Der Autor 2022

■ Bakterien benutzen zahlreiche hochkomplexe Sekretionssysteme, um Proteine durch ihre Zellhülle zu transportieren. Die sekretierten Proteine können auf der Zelloberfläche verbleiben, in die Umgebung ausgeschieden oder direkt in bakterielle oder eukaryotische Zellen injiziert werden. Typ-VII-Sekretionssysteme (T7SS) haben diverse Rollen, z. B. bei der Bakterium-Wirt-Interaktion, Immunevasion, Nährstoffaufnahme, bakteriellen Konjugation oder Eliminierung bakterieller Konkurrenz. T7SS sind weit verbreitet in pathogenen und nicht-pathogenen Firmicutes und Aktinobakterien. T7SS sind von medizinischer Bedeutung, beispielsweise bei Infektionen mit *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus gallolyticus*, *Mycobacterium abscessus* oder *Mycobacterium tuberculosis.* Dieser Artikel konzentriert sich auf die T7SS pathogener Mykobakterien.



▲ **Abb. 1:** Rolle des mykobakteriellen T7SS bei der Tuberkulose. Der häufigste Übertragungsweg von *Mycobacterium tuberculosis* über Aerosole in der Luft ist angedeutet. Die Rollen der fünf bekannten ESX-Systeme während der Infektion: ESX-1 ist verantwortlich für die Lyse des Phagosoms, die durch ESX-2 und ESX-4 auf noch nicht verstandene Weise unterstützt wird. ESX-3 verzögert die Reifung des Phagosoms und inhibiert seine Reparatur. ESX-3 und ESX-5 vermitteln die Aufnahme von Nährstoffen während der Infektion.

Jedes Jahr sterben etwa 1,4 Millionen Menschen an Tuberkulose, und bei weiteren 10 Millionen Menschen wird sie diagnostiziert [1]. Ein Viertel der Weltbevölkerung, etwa zwei Milliarden Menschen, tragen eine latente Tuberkulose in sich, ein nicht ansteckender Zustand der Krankheit, bei dem der Erreger im Körper präsent, aber nahezu inaktiv ist. Circa fünf bis zehn Prozent aller latent Infizierten entwickeln im Laufe ihres Lebens eine aktive Tuberkulose.

Tuberkulose tritt prävalent als Lungenentzündung auf, deren Haupterreger *M. tuberculosis* ist. Die Erreger werden in der Regel durch Aerosole, z. B. durch Husten, von Mensch zu Mensch übertragen, während andere Übertragungswege, etwa über nicht pasteurisierte Milch, heutzutage selten sind. Die eingeatmeten Bakterien werden typischerweise von Makrophagen in den Alveolen der Lunge durch Phagocytose aufgenommen.

In den Makrophagen spielen fünf T7SS, ESX-1 bis ESX-5, eine entscheidende Rolle für das Überleben von *M. tuberculosis* [2, 3]. ESX-1, ESX-2, ESX-3 und ESX-4 stören die Phagocytose, bei der die im Phagosom eingeschlossenen Mikroorganismen durch Verschmelzung mit dem Lysosom abgetötet werden (**Abb. 1**). ESX-1, ESX-2 und ESX-4 bewirken die Lyse der Phagosomenmembran, während ESX-3 die Reparatur der beschädigten Phagosomen hemmt und gleichzeitig die Verschmelzung mit dem Lysosom verzögert.

Die Aktivität von ESX-1 bis ESX4 führt schließlich zur Lyse des Phagosoms und zur Translokation der Mykobakterien in das Cytoplasma, wo sie sich vermehren können. Hier schädigt die lytische ESX-Aktivität die Makrophagenmembran, was den Zelltod und letztlich die Freisetzung der Mykobakterien nach sich zieht.

ESX-1 spielt auch eine Rolle bei der Bildung von Granulomen – Immunzellcluster, die sich um infizierte Zellen bilden. Granulome können *M. tuberculosis* als Replikationsnische oder zur langfristigen Persistenz ausgenutzen, bis eine Reaktivierung der Mykobakterien zum Ausbruch der Krankheit führt. Während der Infektion stellen ESX-3 und ESX-5 die Aufnahme von essenziellen Nährstoffen sicher.

Molekulare Organisation und Transport durch die mykobakterielle Zellwand

T7SS zeichnen sich durch einen konservierten Kern-Proteintransportkomplex in der inneren Membran der zweilagigen mykobakteriellen Zellhülle und zwei cytosolische Hilfskomponenten aus. Strukturstudien unseres und anderer Labore zeigten, dass der konservierte Kern des T7SS-Sekretionsapparates ein 2,3 MDa großer Proteinkomplex in der cytoplasmatischen Membran ist, der sich aus fünf verschiedenen Proteinen in unterschiedlicher Kopienzahl zusammensetzt und insgesamt aus 33 Proteinen besteht [4, 5]. Der T7SS-Transportkomplex organisiert sich als Hexamer, in der sechs identische Protomere eine mutmaßliche zentrale Sekretionspore bilden, unter der eine Vorhofstruktur, bestehend aus 24 ATPase-Domänen, vermutlich die mechanische Bewegung für den Effektorproteinexport aus dem Cytoplasma ausführt, indem sie durch ATP-Bindung und -Hydrolyse induzierte Konformationszustände durchläuft (**Abb. 2**).

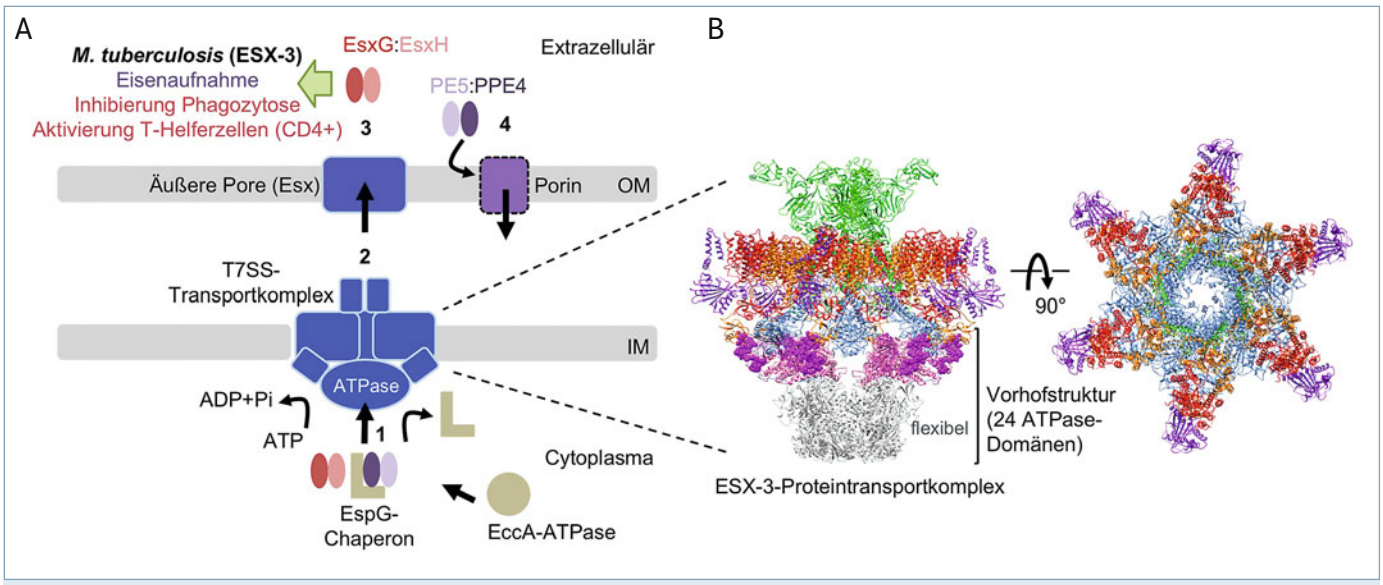
Die Beladung der Sekretionsmaschine mit Effektorproteinen erfordert bis zu zwei cytosolische Hilfskomponenten [3]. Das Chaperon EspG vermindert die Aggregation von Effektorproteinen und spielt eine entscheidende, aber noch nicht genau verstandene Rolle beim Navigieren der Effektorproteine zur richtigen Sekretionsmaschine. Die cytosolische ATPase EccA ist zusätzlich für die Sekretion einer bestimmten Untergruppe von Effektorproteinen erforderlich. Es wird spekuliert, dass EccA als Initiator der Sekretion fungieren könnte, der die anfängliche Aktivierungsenergie für den Transport bereitstellt, oder als Faktor, der die Dissoziation des EspG-Chaperons vor dem Transport bewirkt.

Mehr als 200 T7SS-Effektorproteine konnten bisher identifiziert werden. Die bisher aufgelösten dreidimensionalen Strukturen deuten darauf hin, dass alle Effektorproteine eine im Kern konservierte Helix-*turn*-Helix-Struktur besitzen. Die Bestimmung der molekularen Funktion einzelner Effektorproteine hat sich als schwierig herausgestellt, da sie in der Regel als Heterodimere transportiert werden. Das prototypische Heterodimer bildet eine Vier-Helix-Bündelstruktur, die ein räumlich zweigeteiltes Sekretionssignal zusammensetzt (**Abb. 3**). Die Verteilung des Transportsignals auf beide Proteine deutet darauf hin, dass Heterodimere immer zusammen und im gefalteten Zustand transportiert werden.

Ein Phänomen, die Ko-Sekretion, erschwert die funktionelle Charakterisierung der Effektorproteine, denn die Sekretion einiger Effektorproteindimere hängt zusätzlich von der Sekretion anderer Effektorproteindimere ab. *In vivo*-Daten deuten darauf hin, dass T7SS-Maschinen zwei Bindungsstellen für Effektorproteindimere besitzen, die beladen sein müssen, bevor ihr Transport durch die Zellwand erfolgen kann. Dies bietet eine mögli-

Hier steht
eine Anzeige.

Springer



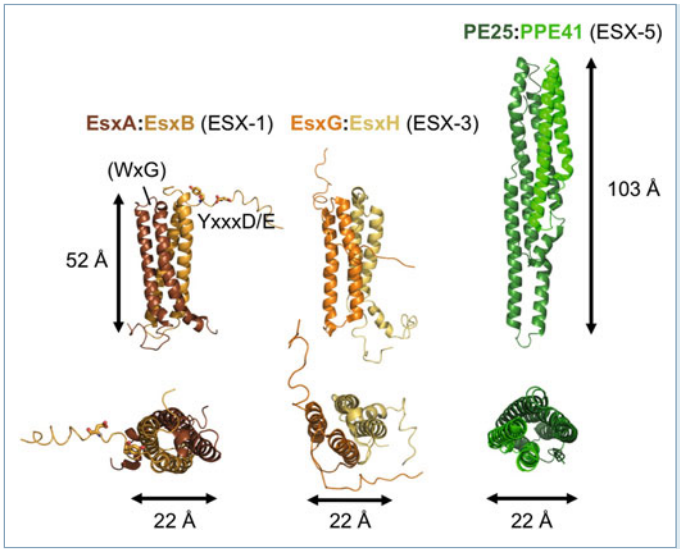
▲ **Abb. 2:** Organisation und Struktur des T7SS in der mykobakteriellen Zellwand. **A**, Transport von Effektorproteinen durch die Zellwand. (1) Transport durch die cytoplasmatische Membran erfordert das Chaperon EspG und die ATPase EccA. (2) Wie Effektorproteine durch das Periplasma und die äußere Membran gelangen, ist unbekannt. (3) Esx-Effektorproteine könnten Exportporen in der äußeren Membran bilden. (4) Einige PE/PPE-Effektorproteine bilden hochspezifische Porine in der äußeren Membran. **B**, Modell des hexameren ESX-3-Transportkomplexes, das aus der Kryo-EM-Struktur eines dimeren Bausteins abgeleitet werden konnte [4]. Sechs Protomere formen eine zentrale Pore in der cytoplasmatischen Membran, durch die Effektorproteine in das Periplasma transportiert werden. Der periplasmatische Teil der Pore (grün) ist verschlossen und hier zur Klarheit ausgeschnitten. Eine unter der Pore liegende Vorhofstruktur enthält 24 ATPase-Domänen, welche die mechanische Bewegung für den Proteintransport ausführen, indem sie durch ATP-Bindung und -Hydrolyse induzierte Konformationsänderungen durchlaufen. Der periplasmatische Teil der Pore (grün) und die ATPase-Domänen sind im Transportkomplex miteinander verbunden. Diese Kopplung koordiniert vermutlich die Öffnung und Schließung der Pore.

che Erklärung für den beobachteten Mechanismus der Ko-Sekretion. Gleichzeitig häufen sich Hinweise darauf, dass Mitglieder der Esx-Effektorproteinfamilie die Fähigkeit besitzen, Poren in der äußeren Mykomembran zu bilden, die den eigenen Export und den anderer Effektorproteine in das extrazelluläre Milieu ermöglichen. Dies würde eine weitere Erklärung für die Ko-Sekretion bieten und gleichzeitig die Frage beantworten, wie Effektorpoteine die extrem hydrophobe und überwiegend aus langkettigen, verzweigten Mykolsäuren bestehende äußere Membran durchqueren.

Der konservierte T7SS-Transportkomplex reicht nur ins Periplasma. Dies wirft die Frage auf, wie T7SS-Effektorproteine durch die mykobakterielle Zellwand transportiert werden. Zwei Sekretionsmodelle werden derzeit diskutiert: Bei einem zweistufigen Transportmechanismus würden die Effektorproteine zuerst durch den inneren Transportkomplex in das Periplasma und dann durch die äußere Membranpore in die extrazelluläre Umgebung transportiert werden.

Alternativ könnten zusätzliche, noch unbekannte Komponenten des T7SS das Periplasma überbrücken und sich mit der äußeren Membranpore verbinden, sodass Protein aus dem Cytoplasma in einem Schritt in die extrazelluläre Umgebung sekretiert wird. Beide Sekretionsmodelle haben Auswirkungen auf den Exportmechanismus durch die äußere Membran. In einem Ein-Schritt-Modell kann der Effektorproteintransport in die extrazelluläre Umgebung durch ATP im Cytoplasma angetrieben werden. Im Zwei-Schritt-Modell erfordert der Transport über die äußere Membran eine andere Energiequelle, da ATP im Periplasma fehlt.

Wie ermöglicht ein Proteinexportsystem die Aufnahme von Nährstoffen? Einige Mitglieder der T7SS-Effektorproteine der PE/PPE-Familie verbleiben in der äußeren Mykomembran, wo sie als hochspezialisierte Porine die selektive Aufnahme von Ionen (Mg^{2+}, PO_4^{2-}) mit eisenbeladenen Siderophoren oder Kohlenhydraten (etwa Glucose) ermöglichen [6]. Wie diese Proteine sich in die äußere Membran einfügen, mit ihren Substraten interagieren und ihre Funktionen ausüben, ist noch unbekannt.



◀ **Abb. 3:** Repräsentative Strukturen der T7SS-Effektorproteine. EsxA:EsxB (ESX-1) aus *Mycobacterium bovis* (pdb ID 1WA8), EsxG:EsxH (ESX-3) aus *M. tuberculosis* (pdb ID 2KG7). PE25:PPE41 (ESX-5) aus *M. tuberculosis* (pdb ID 4W4K). Das T7SS-Sekretionssignal besteht aus den Motiven WxG und YxxxD/E und ist für EsxA:EsxB angedeutet.

T7SS als Ziele für neue Antibiotika

Die Verbreitung von antibiotikaresistenten Erregern erfordert neue Strategien im Kampf gegen bakterielle Infektionen. Machbarkeitsstudien zeigen, dass die Neutralisierung von Virulenzfaktoren eine vielversprechende antimikrobielle Strategie darstellt [7].

So konnte in Mausmodellen gezeigt werden, dass Inhibitoren des Typ-III-Sekretionssystems Schutz vor Infektionen mit *Salmonella* Typhimurium oder *Chlamydia trachomatis* bieten.

Der Grundgedanke hinter einer auf bakterielle Virulenzfaktoren ausgerichteten Therapie besteht darin, die Verteidigungsmechanismen pathogener Bakterien zu beeinträchtigen und so ein Zeitfenster für das Immunsystem zu schaffen, um die Erreger zu beseitigen. Eine solche maßgeschneiderte Therapie würde weniger Kollateralschäden im menschlichen Mikrobiom verursachen als Breitspektrum-Antibiotika, die unspezifisch essenzielle biologische Prozesse hemmen (z. B. Proteintranslation).

Eine Neutralisierung von ESX-1, ESX-2 oder ESX-4 könnte die effiziente Beseitigung der Erreger durch Phagocytose bewirken. Die Hemmung der Nährstoffaufnahme durch ESX-3 oder ESX-5 könnte das mykobakterielle Wachstum bremsen und zur Eindämmung der Infektion beitragen. Die Wirkung des Lebendimpfstoffs *Mycobakterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin, der nur begrenzten Schutz gegen Tuberkulose bietet, ist hauptsächlich auf eine genetische Deletion von ESX-1 zurückzuführen und weist auf das Potenzial von T7SS-Inhibitoren hin. Eine erste Studie identifizierte ESX-1-Inhibitoren und bestätigte ihre Wirksamkeit in Lungenfibroblasten-Zellkulturen [8].

T7SS-Inhibitoren eröffnen neue antibakterielle Strategien auch gegen andere Krankheitserreger, die auf das T7SS für die Wirtsinfektion angewiesen sind. T7SS findet sich auch in nicht-tuberkulösen Erregern des *Mycobacterium abscessus*-Komplexes, einer Gruppe multiresistenter Keime, die Haut- und Lungeninfektionen verursachen [9]. ESX-4 spielt eine essenzielle Rolle für das intrazelluläre Überleben von *M. abscessus*. ■

Literatur

[1] WHO (2020) Global Tuberculosis Report 2020. https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2020 (Zugegriffen: 14.02.2022)

[2] Pajuelo D, Tak U, Zhang L et al. (2021) Toxin secretion and trafficking by Mycobacterium tuberculosis. Nat Commun 12: 6592

[3] Rivera-Calzada A, Famelis N, Llorca O, Geibel S (2021) Type VII secretion systems: structure, functions and transport models. Nat Rev Microbiol 19: 567–584

[4] Famelis N, Rivera-Calzada A, Degliesposti G et al. (2019) Architecture of the mycobacterial type VII secretion system. Nature 576: 321–325

[5] Bunduc CM, Fahrenkamp D, Wald J et al. (2021) Structure and dynamics of a mycobacterial type VII secretion system. Nature 593: 445–448

[6] Wang Q, Boshoff HIM, Harrison JR et al. (2020) PE/PPE proteins mediate nutrient transport across the outer membrane of Mycobacterium tuberculosis. Science 367: 1147–1151

[7] Fasciano AC, Shaban L, Mecsas J (2019) Promises and challenges of the type three secretion system injectisome as an antivirulence target. EcoSal Plus 8: 10.1128/ecosalplus.ESP-0032-2018

[8] Rybniker J, Chen JM, Sala C et al. (2014) Anticytolytic screen identifies inhibitors of mycobacterial virulence protein secretion. Cell Host Microbe 16: 538–548

[9] Johansen MD, Herrmann JL, Kremer L (2020) Nontuberculous mycobacteria and the rise of Mycobacterium abscessus. Nat Rev Microbiol 18: 392–407

Funding note: Open Access funding enabled and organized by University of Leiden.

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. Sebastian Geibel
Leiden Institute of Chemistry
Universität Leiden
Gorlaeus Building
NL-2333 CC Leiden
s.r.j.geibel@lic.leidenuniv.nl

AUTOR

Sebastian Geibel
2003–2006 Biochemiestudium, FU Berlin. **2006–2009** Promotion bei Prof. Dr. W. Saenger, FU Berlin. **2010–2014** Postdoc bei Prof. Dr. G. Waksman, Birkbeck College, UK. **2014–2021** Arbeitsgruppenleiter am Institut für Molekulare Infektionsbiologie und am Rudolf-Virchow-Zentrum, Universität Würzburg, gefördert durch das Elitenetzwerk Bayern. **Seit 2022** Associate Professor am Institut für Chemie, Universität Leiden, Niederlande.

Hier steht eine Anzeige.

Springer