



Stefan H. E. Kaufmann

Infektabwehr gegen intrazelluläre Bakterien : von der Entdeckung des Tuberkuloseerregers bis zur Aufklärung der zellulären Immunmechanismen

(Vortrag in der Sitzung der Biowissenschaftlich-medizinischen Klasse am 26. Juni 1997)

In: Berichte und Abhandlungen / Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften (vormals Preußische Akademie der Wissenschaften) ; 5.1998, S. 71-89

Persistent Identifier: [urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-31189](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-31189)

Die vorliegende Datei wird Ihnen von der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften unter einer Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (cc by-nc-sa 4.0) Licence zur Verfügung gestellt.



Stefan H. E. Kaufmann

Infektabwehr gegen intrazelluläre Bakterien: Von der Entdeckung des Tuberkuloseerregers bis zur Aufklärung der zellulären Immunmechanismen

*(Vortrag in der Sitzung der Biowissenschaftlich-medizinischen Klasse
am 26. Juni 1997)*

Einleitung

Als Robert Koch am 24. März 1882 in Berlin erstmals öffentlich über die Entdeckung des Tuberkuloseerregers berichtete, hatte er den bedeutendsten Vertreter einer Gruppe medizinisch wichtiger bakterieller Krankheitserreger identifiziert (Abb. 1) [1]. Zu Robert Kochs Zeiten war dieser Erreger für mehr als 20 % aller Todesfälle verantwortlich. Seitdem ist die Bedrohung in dieser Stadt und der gesamten westlichen Welt deutlich zurückgegangen. Dennoch erkrankten allein in Deutschland 1996 mehr als 12.000 Menschen an Tuberkulose. Weltweit ist die Situation so dramatisch, daß sich die Weltgesundheitsbehörde 1993 veranlaßt sah, den Tuberkulosenotstand auszurufen. Am Tuberkuloseerreger sterben weltweit mehr Menschen als an irgendeinem anderen Krankheitserreger, jährlich sind 8 Mio. Neuerkrankungen zu verzeichnen, und 60 Mio. sind derzeit an Tuberkulose erkrankt [2]. Man könnte annehmen, daß das Immunsystem unfähig ist, die Tuberkulose zu verhindern. Andererseits wissen wir heute, daß knapp 2 Mrd. Menschen – also etwa ein Drittel der gesamten Weltbevölkerung – mit dem Tuberkuloseerreger infiziert sind. Somit erkrankt nur ein außerordentlich geringer Teil – weit weniger als 10 % der Infizierten – an Tuberkulose. Hieraus läßt sich für den Immunologen ableiten, daß das Immunsystem der meisten Infizierten den Erreger effektiv kontrolliert. Bildhaft lassen sich diese beiden Aspekte am besten in Form einer Waage darstellen. Bei den meisten Infizierten stellt sich zwischen den körpereigenen Abwehrkräften und dem Erreger ein labiles Gleichgewicht ein, das über Jahrzehnte unverändert ausgewogen bleibt. Nur bei wenigen senkt sich die Waage zugunsten des Erregers, und es entwickelt sich eine klinische Erkrankung. Typischerweise entsteht die Erkrankung nach Schwächung des körpereigenen Immunsystems, wie es dramatisch an der hohen Inzidenz an Tuberkulosekranken unter HIV-Infizierten illustriert wird. Prinzipiell ist schließlich möglich, daß sich das Gleichgewicht

Die Berliner Klinische Wochenschrift erscheint jeden Montag in der Größe von ungefähr 32 Bogen zu 4. Preis vierteljährlich 3 Mark. Bestellungen nehmen alle Buchhandlungen und Post-Anstalten an.

Druckungen wolle man bestellen bei G. Reimerstr. 17, oder bei der Verlagshandlung von August Hirschwald in Berlin (K. W. Unter den Linden 52) oder in.

BERLINER KLINISCHE WOCHENSCHRIFT.

Organ für practische Aerzte.

Mit Berücksichtigung der preussischen Medicinalverwaltung und Medicinalgesetzgebung nach amtlichen Mittheilungen.

Redacteur: Professor Dr. C. A. Koch

Verlag von August Hirschwald in Berlin.

Montag, den 10. April 1882.

Nr. 15.

Neunzehnter Jahrgang.

Inhalt: I. Koch: Die Aetiologie der Tuberculose. — II. Müller: Ueber einen Fall von Wandepheke. — III. Küster: Ueber antiseptische Putzverfahren (Schluss). — IV. Verhandlungen ärztlicher Gesellschaften (Berliner medicinische Gesellschaft). — V. Puffenberger (Maximaltabelle der Pharmazoea Germanica, ed II. — VI. Amthelche Mittheilungen. — Inserate.

I. Die Aetiologie der Tuberculose.

(Nach einem in der physiologischen Gesellschaft zu Berlin am 24. März cr. gehaltenen Vortrag.)

von
Dr. Robert Koch,

Regierungsrath im Kaiserl. Gesundheitsamt.

Die von Villermé gemachte Entdeckung, dass die Tuberculose auf Thiere übertragbar ist, hat bekanntlich vielfache Bestätigung, aber auch anscheinend wohlgegründeten Widerspruch gefunden, so dass es bis vor wenigen Jahren unentschieden bleiben musste, ob die Tuberculose eine Infektionskrankheit sei oder nicht. Seitdem haben ausser die zuerst von Cobnheim und Salomonsen, später von Baumgarten ausgeführten Impfungen in die vordere Augenkammer, ferner die Inhalationsversuche von Tappeiner und Andren die Uebertragbarkeit der Tuberculose gegen jeden Zweifel sicher gestellt und es muss ihr in Zukunft ein Platz unter den Infektionskrankheiten angewiesen werden.

Wenn die Zahl der Opfer, welche eine Krankheit fordert, als Massstab für ihre Bedeutung zu gelten hat, dann müssen alle Krankheiten, namentlich aber die gefährlichsten Infektionskrankheiten, Pest, Cholera u. s. w. weit hinter der Tuberculose zurückstehen. Die Statistik lehrt, dass 1/3 aller Menschen an Tuberculose stirbt und dass, wenn nur die mittleren productiven Altersklassen in Betracht kommen, die Tuberculose ein Drittel derselben und oft mehr dahinführt. Die öffentliche Gesundheitspflege hat also Grund genug, ihre Aufmerksamkeit einer so widerwärtigen Krankheit zu widmen, ganz abgesehen davon, dass noch andere Verhältnisse, von denen nur die Beziehungen der Tuberculose zur Posaicht erwähnt werden sollen, das Interesse der Gesundheitspflege in Anspruch nehmen.

Da es nun zu den Aufgaben des Gesundheitsamtes gehört, die Infektionskrankheiten vom Standpunkte der Gesundheitspflege aus, also in erster Linie in Bezug auf ihre Aetiologie, zum Gegenstand von Ermittlungsarbeiten zu machen, so erschien es als eine dringende Pflicht, vor Allem über die Tuberculose eingehende Untersuchungen anzustellen.

Das Wesen der Tuberculose zu ergründen, ist schon wiederholt versucht, aber bis jetzt ohne Erfolg. Die zum Nachweis der pathogenen Microorganismen so vielfach bewährten Färbungsmethoden haben dieser Krankheit gegenüber im Stich gelassen

und die zum Zwecke der Isolirung und Züchtung des Tuberkel-Virus angestellten Versuche konnten bis jetzt nicht die gelungene angesehen werden, so dass Cobnheim in der soeben erschienenen neuesten Auflage seiner Vorlesungen über Allgemeine Pathologie „den directen Nachweis des tuberculösen Virus als ein bis heute noch ungelöstes Problem“ bezeichnen musste.

Bei meinen Untersuchungen über die Tuberculose habe ich mich anfangs nach der bekannten Methoden bedient, ohne damit eine Aufklärung über das Wesen der Krankheit zu erlangen. Aber durch einige gelegentliche Beobachtungen wurde ich dann veranlasst, diese Methoden zu verlassen und andere Wege einzuschlagen, die schliesslich auch zu positiven Resultaten führten.

Das Ziel der Untersuchung musste zunächst auf den Nachweis von irgend welchen, dem Körper fremdartigen, parasitischen Gebilden gerichtet sein, die möglicherweise als Krankheitsursache gedeutet werden konnten. Dieser Nachweis gelang auch in der That durch ein bestimmtes Färbungsverfahren, mit Hilfe dessen in allen tuberculös veränderten Organen charakteristische, bis dahin nicht bekannte Bacterien zu finden waren. Es würde zu weit führen, den Weg, auf welchem ich zu diesem neuen Verfahren gelangte, zu schildern und ich will deswegen sofort zur Beschreibung desselben übergehen.

Die Untersuchungsobjecte werden in der bekannten, für Untersuchungen auf pathogene Bacterien üblichen Weise, vorbereitet und entweder auf dem Deckglas ausgebreitet, getrocknet und erhärtet, oder nach Erhärtung in Alkohol in Schmitte zerlegt. Die Deckgläschen oder Schmitte gelangen in eine Farblösung von folgender Zusammensetzung: 200 Ccm. destillirten Wassers werden mit 1 Ccm. einer concentrirten Alcoholischen Methylblau-Lösung versetzt, umgeschüttelt und erhalten dann unter wiederholtem Schütteln noch einen Zusatz von 0,2 Ccm. einer 10%, Kalklauge. Diese Mischung darf selbst nach erfolgtem Stehen keinen Niederschlag geben. Die zu färbenden Objecte bleiben in derselben 20 bis 24 Stunden. Durch Erwärmen der Farblösung auf 40° C. im Wasserbade kann diese Zeit auf 1, bis 1 1/2 Stunde abgekürzt werden. Die Deckgläschen werden hierauf mit einer concentrirten wässrigen Lösung von Yerspin, welche vor jedesmaligem Gebrauche zu filtriren ist, übergossen und nach ein bis zwei Minuten mit destillirtem Wasser abgepült. Wenn die Deckgläschen aus dem Methylblau kommen, sieht die ihnen anhaftende Schicht dunkelblau aus und ist stark

Abb. 1

Erstbeschreibung des Tuberkuloseerregers durch Robert Koch im Jahr 1882. Die Arbeit erschien in der Berliner Klinischen Wochenschrift Nr. 15/10 vom 10. April 1882.

zugunsten des Infizierten verschiebt und dem körpereigenen Abwehrsystem die Ausrottung der Erreger gelingt. Hierüber sind jedoch kaum Daten vorhanden, und wir müssen annehmen, daß dies ein seltenes Ereignis darstellt. Eine Verschiebung in diese Richtung muß aber das Ziel einer effektiven Impfstoffstrategie sein [3].

Aus dem Gesagten läßt sich ableiten, daß der Schlüssel zum Verständnis der Folgen einer Infektion mit dem Tuberkuloseerreger in der Immunantwort zu suchen ist. Eine Klärung der Immunmechanismen, die gegen das Tuberkelbakterium gerichtet sind, ermöglicht nicht nur ein tieferes Verständnis der antiinfektiösen Immunantwort, sondern kann auch neue Wege zu Therapie und Prävention aufweisen. Da Untersuchungen mit dem Tuberkuloseerreger außerordentlich aufwendig sind, müssen in vielen Fällen auch Infektionen mit anderen Pathogenen aus der Gruppe der intrazellulären Bakterien herangezogen werden.

Makrophagen als Lebensraum der intrazellulären Bakterien

In Tabelle 1 sind medizinisch wichtige Mitglieder der Gruppe der intrazellulären Bakterien zusammengefaßt. Wie der Name bereits andeutet, halten sich intrazelluläre Bakterien bevorzugt innerhalb von Wirtszellen auf [4]. Dabei haben sie sich eine Zelle als Lebensraum ausgesucht, die für die Infektabwehr bestens gerüstet ist: den mononukleären Phagozyten. Solange sich Gewebsmakrophagen im Ruhe-

Erreger	Krankheitsbild	Eintrittspforte	Bevorzugte Wirtszelle	Intrazelluläre Lokalisation	Hauptsächlich aktivierte T-Zelle
<i>Salmonella enterica</i>	Typhus	Darm	Makrophage	Phagosom	CD4 T-Zelle
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriose	Darm	Makrophage/ Hepatozyt	Zytoplasma	CD8 T-Zelle
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberkulose	Lunge	Makrophage	Phagosom	CD4 und CD8 T-Zelle
<i>Mycobacterium leprae</i>	Lepra	Haut, Schleimhaut	Makrophage, Schwann-Zelle	Phagosom	CD4 und CD8 T-Zelle
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	Tuberkulose- Impfstoff	Injektionsstelle	Makrophage	Phagosom	CD4 T-Zelle

Tabelle 1
Medizinisch wichtige intrazelluläre Bakterien

zustand befinden, sind sie außerstande, ihre intrazellulären Parasiten zu eliminieren. Dies ist darauf zurückzuführen, daß intrazellulär vitale Bakterien Strategien entwickelt haben, welche die antimikrobiellen Effektorfunktionen des ruhenden Makrophagen aktiv hemmen oder ein Entgleiten des Keims ermöglichen. Die meisten intrazellulären Bakterien besitzen die Fähigkeit, im Phagosom zu überleben [5]. Wenn ein Makrophage einen inerten Partikel gefressen hat, so reift das umgebende Phagosom heran, und es bildet sich schließlich ein Phagolysosom, das einen unwirtlichen Lebensraum bietet. Die meisten intrazellulären Bakterien aber arretieren die Phagolysosomenreifung, so daß sie in einem weniger gefährlichen Milieu persistieren können. Diesen Mechanismus nutzen zum Beispiel *M. tuberculosis*, *Salmonella enterica* und *Legionella pneumophila*. *Listeria monocytogenes* hat dagegen eine andere Strategie entwickelt. Dieser Keim sezerniert im frühen Phagosom Listeriolysin, das die Zellmembran lysiert. Auf diese Weise gelingt es Listerien, in das Zytoplasma zu entweichen. Aktivierte Makrophagen besitzen dagegen die Fähigkeit, das Wachstum intrazellulärer Bakterien einzudämmen oder diese vollständig zu eliminieren. Die Aktivierung wird durch Zytokine ausgelöst, die insbesondere von spezifischen T-Lymphozyten gebildet werden. An erster Stelle ist Interferon- γ (IFN- γ) zu nennen, obwohl auch andere Zytokine, wie zum Beispiel das Makrophagenprodukt Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α), zur Makrophagenaktivierung beitragen [6].

Intrazellulärer Lebensraum und T-Zellaktivierung

Die Population der T-Lymphozyten besteht aus mehreren Subpopulationen [7]. Die bedeutendste Population sind die α/β T-Zellen, welche zur Antigenerkennung einen T-Zellrezeptor (TZR) nutzen, der aus einer α - und einer β -Kette besteht. Der α/β TZR sieht ein mikrobielles Peptid im Kontext einer körpereigenen Referenzstruktur, die von Genen des Haupthistokompatibilitätskomplexes (engl.: major histocompatibility complex, kurz: MHC) kodiert wird. Die CD4 T-Zellen sind MHC Klasse II und die CD8 T-Zellen sind MHC Klasse I restringiert (Abb. 2). Das MHC Klasse II Molekül „pendelt“ zwischen Phagosom und Zelloberfläche und ist daher für die Präsentation von Peptiden aus dem Phagosom verantwortlich. Dagegen „pendeln“ die MHC Klasse I Moleküle zwischen endoplasmatischem Retikulum (ER) und Zelloberfläche. Die im Zytoplasma vorhandenen Proteine werden durch Proteasomen degradiert, und die entstandenen Peptide werden von einem spezialisierten Transportsystem (transporters associated with antigen processing, kurz: TAP) ins ER gebracht, von wo sie von MHC Klasse I Genprodukten auf die Zelloberfläche befördert werden. Auf diese Weise bestimmt die intrazelluläre Antigenlokalisation den Phänotyp der aktivierten T-Zellen (siehe Tabelle 1). Infolgedessen aktivieren

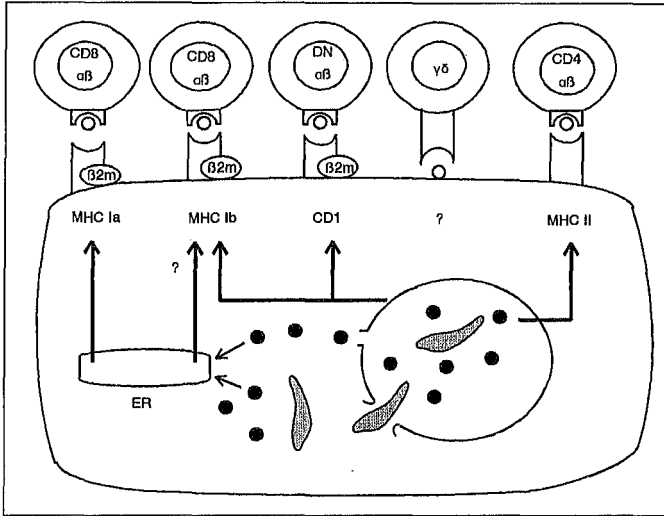


Abb. 2

Konventionelle und unkonventionelle T-Zellen bei der antibakteriellen Infektabwehr. Das Schema zeigt die unterschiedlichen Prozessierungswege für die verschiedenen T-Zellpopulationen.

„phagosomale“ Bakterien, wie *S. enterica*, primär CD4 T-Zellen und „zytoplasmatische“ Erreger, wie *L. monocytogenes*, hauptsächlich CD8 T-Lymphozyten.

Die unterschiedliche Aktivierung von CD4 bzw. CD8 T-Lymphozyten beeinflusst auch die Rolle der jeweiligen T-Zellpopulation am erworbenen Schutz. Diese Feststellung wird durch Experimente mit Mäusemutanten mit definiertem Gendefekt eindrücklich belegt. Mausmutanten mit defektem MHC Klasse II Ketten-Gen besitzen keine konventionellen CD4 T-Zellen, während Mausmutanten mit defektem β 2-Mikroglobulin (β 2M)-Gen keine MHC Klasse I Moleküle auf der Zelloberfläche exprimieren und demzufolge keine konventionellen CD8 T-Zellen besitzen. Der Infektionsverlauf mit *M. bovis* BCG oder mit *S. enterica* wird durch den CD8 T-Zelldefekt kaum beeinflusst, während bereits niedrige Dosen dieses phagosomalen Krankheitserregers für CD4 T-Zell-defiziente Tiere letal sind [8, 9]. Umgekehrt sind CD8 T-Zell-defiziente Mäuse gegenüber einer *L. monocytogenes*-Infektion außerordentlich empfindlich, während die CD4 T-Zell-defizienten Tiere diesen Erreger bedingt kontrollieren können [10]. Eine Infektion mit *M. tuberculosis* können dagegen weder CD4 noch CD8 T-Zell-defiziente Mäuse effektiv bekämpfen [11 und Ladel et al., unveröffentlicht]. Hierzu werden sowohl CD4 als auch CD8 T-Lymphozyten benötigt.

Alternative Wege der MHC Klasse I Prozessierung vom Phagosom aus

Obwohl sich *M. tuberculosis* mit aller Wahrscheinlichkeit im Phagosom aufhält und nicht in das Zytoplasma entweichen kann, werden Erregerantigene über den MHC Klasse I Weg präsentiert, so daß bei immunkompetentem Status CD8 T-Zellen stimuliert werden können [6]. Man muß jedoch befürchten, daß die CD8 T-Zellaktivierung bei der Tuberkulose ungenügend ist, und daher eine Diskrepanz zwischen der Fähigkeit zur CD8 T-Zellaktivierung und der Bedeutung dieser T-Zellpopulation für die protektive Immunantwort besteht. Dies könnte ein Grund dafür sein, daß *M. tuberculosis* selbst im Immunkompetenten nicht vollständig ausgerottet wird. Dieses Mißverhältnis könnte auch die ungenügende Effektivität des derzeit verfügbaren Impfstoffs *M. bovis* Bacille Calmette Guérin (BCG) zumindest teilweise erklären [12]. Dieser Keim verweilt im Phagosom und stimuliert fast ausschließlich CD4 T-Zellen. Während BCG eine disseminierte Tuberkulose im Kleinkind eindämmen kann, besitzt der Impfstoff nicht die Fähigkeit, die Reaktivierung einer Tuberkulose im Erwachsenenalter zu verhindern. Man nimmt an, daß der erstgenannte Krankheitsverlauf im wesentlichen von CD4 T-Lymphozyten kontrolliert wird, während für die Kontrolle des Krankheitsbilds in Erwachsenen zusätzlich auch CD8 T-Lymphozyten benötigt werden.

Für weitergehende Untersuchungen zur möglichen Beziehung zwischen intrazellulärer Lokalisation und Beteiligung der aktivierten T-Zellsubpopulationen am Schutz wurden rekombinante *S. enterica*-Stämme konstruiert, welche definierte Listerienproteine sezernieren [13]. Als Listerienproteine wurden gewählt: (1) das an der Bakterienteilung und möglicherweise auch an der Zelladhäsion beteiligte Protein p60 und (2) das bereits erwähnte Listeriolysin, welches für die Auswanderung aus dem Phagosom in das Zytoplasma verantwortlich ist. Beide Proteine sind dominante Antigene listerienspezifischer CD8 T-Zellen. Während aber Listeriolysin einen dramatischen Einfluß auf die intrazelluläre Lebensweise hat, kann Entsprechendes für p60 mit aller Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Mit Hilfe des *Escherichia coli*-Hämolyysin-Transportsystems werden diese Proteine von *r-S. enterica*-Stämmen sezerniert und der MHC-Prozessierung unterworfen. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, daß listeriolysinexprimierende *r-S. enterica*-Stämme die Fähigkeit erworben haben, aus dem Phagosom in das Zytoplasma auszuwandern [14]. Infektionsversuche mit Kontrollstämmen und diesen listeriolysinsezernierenden *r-S. enterica*-Stämmen ergaben aber, daß die zytoplasmatische Lokalisation nur einen schwachen Einfluß auf den Infektionsverlauf hat. Selbst in CD8 T-Zell-defizienten Mäusemutanten ist der Krankheitsverlauf kaum von dem des Kontrollstamms zu unterscheiden. Daraus läßt sich ableiten, daß die zytoplasmatische Lokalisation für *S. enterica* keinen weiteren Überlebensvorteil bietet.

In darauf folgenden Experimenten wurde versucht, mit den *r-S. enterica*-Stämmen, die definierte Listerienproteine sezernieren, Schutz gegen eine nachfolgende *L. monocytogenes*-Infektion zu erzielen. Sowohl p60- als auch listeriolysinexprimierende *r-S. enterica*-Stämme waren in der Lage, Impfschutz gegen Listerien hervorzurufen. Für beide Antigene konnten Hinweise erbracht werden, daß daran CD8 T-Lymphozyten beteiligt sind. Hieraus kann abgeleitet werden, daß nicht nur die in das Zytoplasma ausgewanderten, sondern auch die im Phagosom verbleibenden Impfstämme die Fähigkeit besitzen, protektive CD8 T-Lymphozyten zu aktivieren. Wahrscheinlich wurden p60-Moleküle, die in das phagosomale Milieu sezerniert wurden, in das Zytoplasma transportiert, von wo aus die Antigenbeladung der MHC Klasse I Moleküle erfolgen konnte (Abb. 3). Inwieweit hieran salmonellen-spezifische Faktoren oder wirtseigene Mechanismen beteiligt waren, bedarf der weiteren Klärung. Es ist anzunehmen, daß vergleichbare Mechanismen bei der CD8 T-Zellaktivierung durch *M. tuberculosis* wirksam werden.

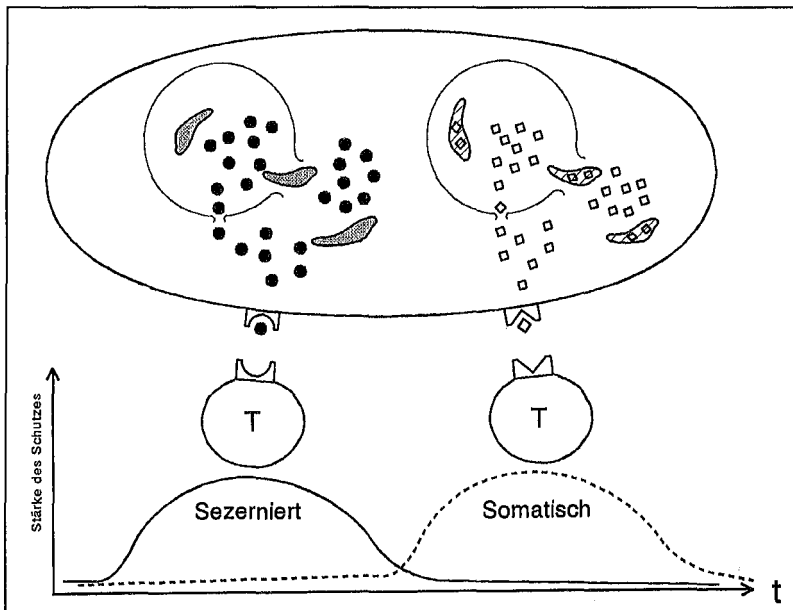


Abb. 3

Einfluß von intrazellulärer Lokalisation und Antigen darbietung auf den Impfschutz. Sezernierte Proteine werden früher als somatische Proteine prozessiert. Daher können T-Zellen mit Spezifität für sezernierte Antigene früher aktiviert werden als T-Zellen mit Spezifität für somatische Antigene.

Einfluß der Antigen darbietung auf die Impfstärke

Es wurden *r-S. enterica*-Stämme konstruiert, welche die Listerienproteine p60 und Listeriolysin im Zellinneren exprimieren [13]. Dies gelang durch genetische Deletion einer Komponente des *E. coli*-Hämolyisin-Transportsystems. Somit waren *r-S. enterica*-Stämme verfügbar, die Listeriolysin bzw. p60 in somatischer oder sezernierter Form darboten. Wie bereits gesagt, konnte mit den sezernierenden Impfstämmen ein deutlicher Schutz gegen eine nachfolgende Listerieninfektion hervorgerufen werden. Dagegen gelang dies mit Impfstämmen, welche dieselben Antigene im Soma exprimierten, nicht. Der Antigen darbietung muß daher ein wesentlicher Einfluß auf die Impfstärke zugesprochen werden. Sezernierte Antigene können bereits im ruhenden Makrophagen prozessiert und T-Lymphozyten angeboten werden. Dagegen stehen somatische Proteine erst zur Verfügung, nachdem die Bakterien abgetötet und abgebaut wurden (siehe Abb. 3). Dies gelingt aber erst dem aktivierten Makrophagen. Sezernierte Proteine stehen daher bereits während der Frühphase der Infektion als Antigene zur Verfügung, während somatische Antigene erst zu späteren Zeiten verfügbar werden. Somit stellt die Proteinsekretion einen wichtigen Parameter für die Impfstärke bakterieller Lebendimpfstoffe dar.

MHC Klasse Ib-abhängige CD8 α/β T-Zellen

Obwohl die konventionellen CD4 und CD8 T-Lymphozyten den wesentlichen Anteil am erworbenen Schutz tragen, haben Befunde aus neuerer Zeit Hinweise dafür erbracht, daß zusätzlich auch unkonventionelle T-Lymphozytenpopulationen an der Infektabwehr gegen intrazelluläre Bakterien beteiligt sind [7]. So wurden CD8 T-Lymphozyten aus listerieninfizierten Mäusen isoliert, die nicht der klassischen MHC Klasse I Restriktion unterlagen [15]. Diese CD8 T-Lymphozyten erkennen Peptide, die durch eine N-formyl-Methionin (N-f-Met)-Sequenz charakterisiert sind und von nichtklassischen MHC Klasse Ib Molekülen präsentiert werden [16]. Während diese N-f-Met-Peptide bei Prokaryonten weitverbreitet sind, findet man sie bei Säugerzellen lediglich in Mitochondrien, die von Prokaryonten abstammen. Die MHC Klasse Ib Genprodukte sind mit den klassischen MHC Klasse I Molekülen verwandt. Sie sind aber im Gegensatz zu diesen nicht polymorph verbreitet. Weiterhin findet die Beladung dieser MHC Klasse Ib Moleküle mit bakteriellen N-f-Met-Peptiden im Phagosom statt. Die N-f-Met-spezifischen CD8 T-Lymphozyten sind in der Lage, adaptiv Schutz gegen Listerien zu übertragen. Darüber hinaus gelingt es, durch Mehrfachimpfung mit abgetöteten Listerien Schutz gegen

eine nachfolgende Infektion mit lebenden *L. monocytogenes*-Organismen hervorzurufen [17]. Über dieses Präsentationssystem können daher CD8 T-Lymphozyten vom Phagosom aus aktiviert werden, Schutz zu vermitteln (siehe Abb. 2).

CD1-abhängige doppeltnegative (DN) α/β T-Zellen

Im Humansystem konnten DN T-Lymphozyten von ungewöhnlicher Spezifität isoliert werden [18]. Diese T-Lymphozyten reagieren nämlich mit mykobakteriellen Lipiden, welche von CD1 Molekülen präsentiert werden [19, 20]. Die CD1 Moleküle haben eine entfernte Ähnlichkeit mit MHC Klasse I Genprodukten und sind nicht polymorph verteilt. Bei den bislang identifizierten Liganden handelt es sich um Lipoarabinomannan und Mykolsäuren pathogener Mykobakterien. Bemerkenswerterweise findet die Lipidbeladung der CD1 Moleküle im Phagosom statt (siehe Abb. 2). Da entsprechende T-Lymphozyten im Experimentaltier bislang nicht identifiziert wurden, ist eine endgültige Aussage über die Bedeutung dieser ungewöhnlichen T-Zellpopulation für den antibakteriellen Schutz derzeit nicht möglich. *In vitro* produzieren diese T-Lymphozyten aber IFN- γ und besitzen somit eine wesentliche Fähigkeit protektiver T-Lymphozyten.

γ/δ T-Zellen

Eine kleine Population im peripheren Blut und den lymphatischen Organen bei Mensch und Maus exprimiert einen alternativen TZR, der aus einer γ - und einer δ -Kette besteht [21]. Mausmutanten, denen γ/δ T-Lymphozyten fehlen, zeigen eine erhöhte Suszeptibilität gegenüber hohen Dosen von *M. tuberculosis* [22]. An der Infektabwehr gegen Listerien sind γ/δ T-Lymphozyten ebenfalls beteiligt, wenn auch in geringerem Maße. Interessanterweise entwickeln sich in γ/δ T-zelldefizienten Tieren Abszesse statt der für intrazelluläre bakterielle Infektionen typischen Granulome [23]. Dies deutet auf eine regulatorische Funktion der γ/δ T-Zellen bei der Granulombildung hin. Humane γ/δ T-Lymphozyten werden durch niedermolekulare Bestandteile von Mykobakterien *in vitro* deutlich stimuliert. Hierbei handelt es sich um phosphathaltige temperatur- und proteaseresistente Materialien. Mit Isopentenylpyrophosphat und verwandten Alkylderivaten wurden die ersten natürlichen Liganden für γ/δ T-Lymphozyten identifiziert [24]. Diese Phospholiganden werden, unabhängig von den bekannten antigenpräsentierenden Molekülen, auf der Zelloberfläche dargeboten und möglicherweise direkt von γ/δ T-Lymphozyten erkannt (siehe Abb. 2). Obwohl der TZR an der Ligandenerkennung beteiligt ist, kommt es zu einer oligoklonalen Aktivierung. Die γ/δ T-Lymphozyten, die eine bestimmte TZR-Kettenkombination aus V γ 2/V δ 2 exprimieren, werden

unabhängig von ihrer Feinspezifität stimuliert. Die $V\gamma 2/V\delta 2$ T-Lymphozyten sind die bedeutendste Population der peripheren γ/δ T-Zellen. Selbst wenn γ/δ T-Lymphozyten lediglich 5 bis 10 % aller peripheren Blut T-Lymphozyten ausmachen, werden daher durch Phospholiganden ca. 1–3 % aller peripheren T-Lymphozyten stimuliert. Dies sind zehnfach bis hundertfach mehr Zellen als klonal aktivierte antigenspezifische α/β T-Zellen.

*Warum werden so viele verschiedene T-Zellpopulationen
bei bakteriellen Infektionen aktiviert?*

Zwar wird die Bedeutung der unkonventionellen T-Lymphozyten noch ungenügend verstanden. Die Bevorzugung mikrobieller Liganden durch einige T-Zellpopulationen wirft jedoch die Frage nach den Ursachen ihres Vorhandenseins auf. Zum ersten muß festgestellt werden, daß zumindest die DN α/β T-Zellen und die γ/δ T-Zellen das Dogma, daß der TZR exklusive Spezifität für Peptide im Kontext von MHC Molekülen besitze, erschüttern. Es ist sicher kein Zufall, daß die CD1-kontrollierten DN α/β T-Zellen des Menschen und die MHC Klasse Ib-kontrollierten CD8 T-Zellen der Maus bakterientypische Liganden erkennen. Vielmehr deutet dies daraufhin, daß sich diese T-Zellen als spezialisierte Abwehrzellen in koevolutionärer Auseinandersetzung mit den entsprechenden Krankheitserregern entwickelt haben. Diese T-Zellen werden von Referenzstrukturen kontrolliert, die im Gegensatz zu den klassischen MHC Molekülen nicht polymorph exprimiert werden. Somit entfällt für diese Zellen, wie auch für die γ/δ T-Zellen, die Phospholiganden direkt erkennen, die Restriktion auf autologe Zellen. Der hohe MHC Polymorphismus wird allgemein als wichtiges Schutzprinzip angesehen. Die Präsentation unterschiedlicher Erregerpeptide in verschiedenen Individuen wirkt der Möglichkeit entgegen, daß Mikroben durch Punktmutationen einer Erkennung entgehen. Auf Populationsebene wird es trotz zahlreicher Erreger-Mutationen immer wieder Individuen geben, deren Immunsystem einen unveränderten Bereich des bakteriellen Genprodukts erkennt. Für Impfstoffe ist der geringe Polymorphismus der CD1 und MHC Klasse Ib Moleküle von großem Vorteil, da der identische Ligand in allen Individuen einer Population erkannt und somit für Impfungen genutzt werden kann. Beim γ/δ T-Lymphozyten-stimulierenden Isopentenylpyrophosphat handelt es sich dagegen um einen ubiquitär bei Pro- und Eukaryonten vorkommenden Metaboliten. γ/δ T-Lymphozyten üben wahrscheinlich eher modulierende Regulatorfunktionen aus, so daß die Erkennung kreuzreaktiver Liganden keine dramatischen Konsequenzen hat. Vielmehr ermöglicht die Erkennung derartiger Strukturen, daß Entzündungsprozesse, unabhängig davon, ob sie endogenen oder exogenen Ursprungs sind, durch γ/δ T-Zellen moduliert werden.

Die unterschiedlichen konventionellen und unkonventionellen T-Lymphozyten besitzen alle die Fähigkeit, nach Stimulation $\text{IFN-}\gamma$ zu produzieren. Sie erfüllen somit ein wichtiges Charakteristikum protektiver T-Lymphozyten. Es ist anzunehmen, daß sich diese unterschiedlichen T-Zellpopulationen funktionell nicht dramatisch unterscheiden. Vielmehr ist ihre Einzigartigkeit in der Art ihrer Antigenerkennung und -aktivierung zu suchen. Während die Antigenbeladung von MHC Klasse II, MHC Klasse Ib und CD1 im Phagosom erfolgt, findet der Kontakt zwischen bakteriellem Antigen und MHC Klasse I im ER statt. Somit führen unterschiedliche Prozessierungswege vom Phagosom zur T-Zelle. Während die klassischen MHC Klasse I Moleküle auf fast allen Körperzellen exprimiert werden, sind MHC Klasse II, MHC Klasse Ib und CD1 Moleküle nur auf einigen Zellen zu finden. Daher können MHC Klasse I kontrollierte CD8 T-Zellen ein weit größeres Spektrum an infizierten Zellen erkennen. Obwohl Makrophagen die bevorzugten Wirtszellen für intrazelluläre Bakterien darstellen, findet man Erreger vereinzelt auch in anderen Wirtszellen. Die Erkennung von MHC Klasse I Genprodukten verhindert, daß diese Zellen längerfristig von intrazellulären Bakterien als Nische mißbraucht werden. Hinzu kommt, daß in diesen Zellen antibakterielle Abwehrmechanismen im allgemeinen nicht aktiviert werden. Daher könnte die Fähigkeit der CD8 T-Zellen, Wirtszellen zu lysieren, einen Beitrag zum antibakteriellen Schutz leisten. Durch diese Zerstörung können Bakterien freigesetzt und von Monozyten phagozytiert werden, in denen maximale antibakterielle Aktivitäten stimuliert werden können.

Die Rolle von Zytokinen

Die Infektion mit intrazellulären Bakterien läßt sich zwanglos in drei Abschnitte unterteilen (Abb. 4) [25]. In jedem Abschnitt übernehmen Zytokine zwei wesentliche Aufgaben. Zum ersten lösen sie Effektorfunktionen aus, die das Bakterienwachstum eindämmen; zum zweiten regulieren Zytokine den weiteren Infektionsverlauf. Während der frühen Phase der Infektion werden hauptsächlich proinflammatorische Zytokine wie Interleukin (IL)-1, IL-6 und $\text{TNF-}\alpha$ sowie Chemokine gebildet, welche Phagozyten an den Ort der bakteriellen Absiedlung locken [26, 27]. Die angelockten Phagozyten hemmen das Bakterienwachstum, sind aber im allgemeinen nicht zur sterilen Elimination intrazellulärer Krankheitserreger befähigt. Während dieser frühen Phase werden auch regulatorische Zytokine gebildet. Insbesondere ist hier IL-12 zu nennen, das von infizierten Makrophagen sezerniert wird und entscheidend die folgenden Phasen der Infektion beeinflusst [28]. IL-12 ist ein potenter Induktor der für die antibakterielle Abwehr wesentlichen T-Zellen, welche $\text{IFN-}\gamma$ produzieren und zytolytische Aktivität exprimieren. Während der Intermediärphase dominieren natürliche Killerzellen und γ/δ T-Zellen,

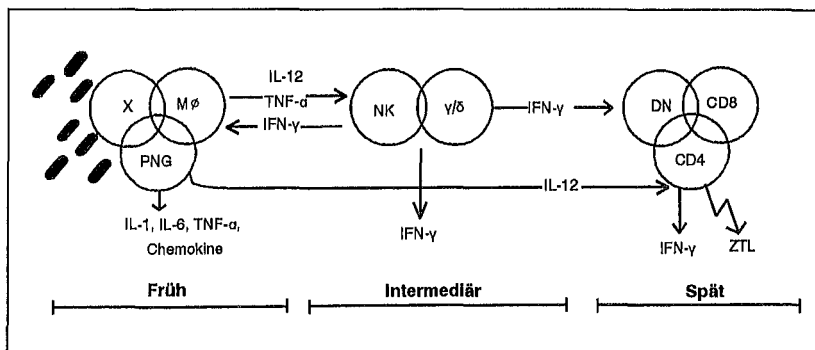


Abb. 4

Die drei Phasen der Infektabwehr gegen intrazelluläre Bakterien. Das Schema zeigt die wesentlichen Zellen und Zytokine sowie ihre regulatorischen und Effektorfunktionen.

die unter dem Einfluß von IL-12 rasch zu potenten IFN- γ -Produzenten heranreifen. IFN- γ ist erstens der bedeutendste Makrophagenaktivator und somit für die antibakterielle Infektabwehr von entscheidender Bedeutung [29]. Zweitens fördert IFN- γ die Reifung der IFN- γ sezernierenden T-Zellen. Auf diese Intermediärphase folgt die späte Phase, die von den T-Zellen der erworbenen Immunität geprägt wird, also den konventionellen CD4 und CD8 α/β T-Zellen sowie den MHC Klasse Ib-kontrollierten CD8 T-Zellen, die alle IFN- γ produzieren. Obwohl unklar ist, in welcher Phase DN α/β T-Zellen aktiviert werden, ist anzunehmen, daß auch sie an der erworbenen Immunphase beteiligt sind.

Das Granulom

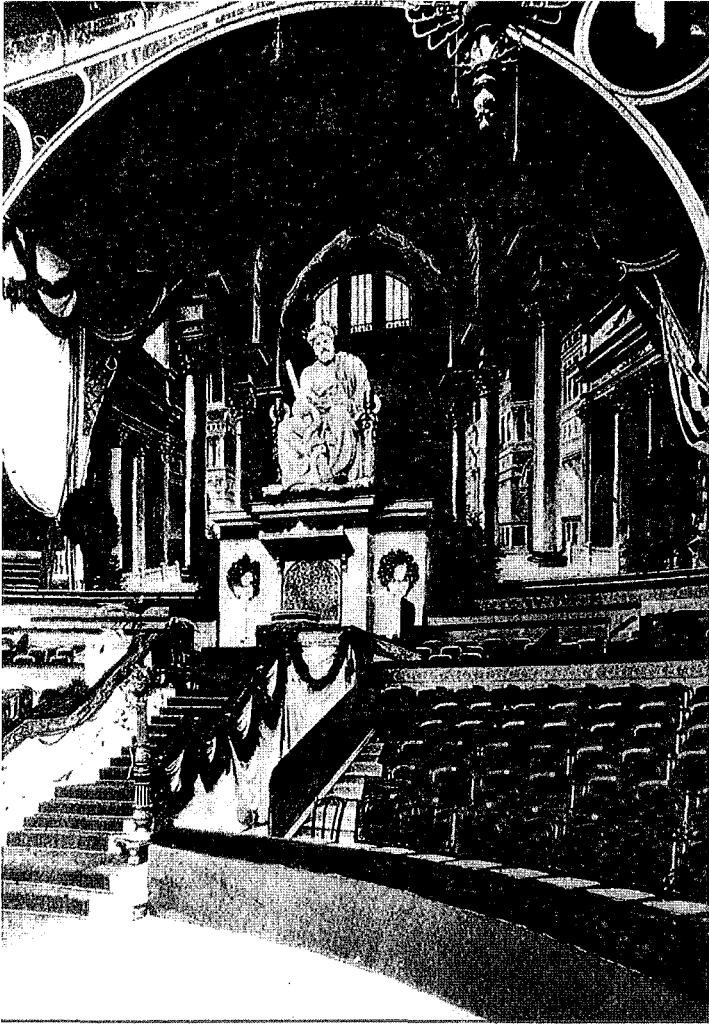
Im Verlauf der Infektion mit intrazellulären Bakterien entwickelt sich am Ort der bakteriellen Absiedlung ein Granulom, in dem T-Lymphozyten und Makrophagen in engen und geordneten Kontakt treten [30]. Die Konzentration auf gut umschriebene Foci ermöglicht zum einen den engen Kontakt zwischen unterschiedlichen T-Lymphozytenpopulationen und mononukleären Phagozyten und konzentriert somit die immunologischen Abwehrkräfte. Zum anderen bewirkt diese Fokussierung eine Eingrenzung der aggressiven Abwehrmechanismen. So werden nicht nur die Bakterien eingeschlossen, sondern auch der Gewebeschaden wird möglichst gering gehalten. Die Bakterieneindämmung findet primär in den aktivierten Makrophagen des Granuloms statt. Die Abgrenzung wird häufig dadurch verstärkt, daß Granulome von einem Fibrinwall umgeben werden. An der Bakterienabtötung sind ins-

besondere reaktive Sauerstoffintermediate (ROI) und reaktive Stickstoffintermediate (RNI) beteiligt [31]. Während die Bedeutung der RNI für die antibakterielle Abwehr im Mäusesystem bewiesen ist, ist dies für das Humansystem nicht völlig geklärt. Dennoch häufen sich die Befunde, daß Humanmakrophagen bei bakteriellen Infektionen die hohen RNI-Mengen produzieren können, die für die Kontrolle der intrazellulären Bakterien benötigt werden.

Während viele intrazelluläre Bakterien in einem optimal aktivierten Granulom vollständig ausgerottet werden können, gelingt dies mit dem Tuberkuloseerreger meist nicht. Im Granulom kann das Wachstum der Erreger aber so weit unterbunden werden, daß es bei Immunkompetenz nicht zum Krankheitsausbruch kommt. Es stellt sich ein labiles Gleichgewicht zwischen Erregerpersistenz und Immunabwehr ein, welches verhindert, daß die Infektion zur Tuberkulose führt. Da einige Tuberkuloseerreger aber persistieren, können geringfügige Schwächungen des Immunsystems nach vielen Jahren eine Reaktivierung einleiten, die sich dann als klinisch apparente Tuberkulose manifestiert.

Entwicklung neuer Impfstoffe gegen Tuberkulose

Die Tuberkulose ist keine Krankheit der Neuzeit. Sie war bereits im Mittelalter weitverbreitet, obwohl sich die Infektion damals häufiger als Skrofulose denn als Schwindsucht darstellte. Entsprechend alt ist der Wunsch der Menschheit, gegen diese Geißel vorzugehen [32]. Auch Robert Koch setzte viele Energien daran, ein Heilmittel gegen die Tuberkulose zu entwickeln. Im Prinzip wollte er einen therapeutischen Impfstoff herstellen, der durch spezifische Stärkung des Immunsystems mit Hilfe von Mykobakterienprodukten die Erregerausrottung bewirkt. Diese Tuberkulinversuche, über die Robert Koch erstmalig 1890, auf dem 10. Internationalen Medizinischen Kongreß in Berlin, berichtete, schlugen jedoch weitgehend fehl (Abb. 5) [33]. Mit der Beschreibung der spezifischen Gewebsreaktion auf Mykobakterienprodukte lieferte Robert Koch aber die Erstbeschreibung einer verzögerten allergischen Reaktion. Das von ihm entwickelte Tuberkulin ist somit nicht die Basis für einen Tuberkuloseimpfstoff, aber die Grundlage des Tuberkulintests, der auch heute noch als Diagnostikum zur Früherkennung einer mykobakteriellen Infektion breite Anwendung findet. Den Kampf gegen die Tuberkulose führten die französischen Wissenschaftler Calmette und Guérin weiter, denen es im Jahr 1908 gelang, nach mehr als 230 Passagen über Galle-Glyzerinnährböden einen *M. bovis*-Stamm zu attenuieren [34]. Dieser Impfstamm – nach seinen Entdeckern BCG genannt – kam jedoch bald in Verruf. Im Jahr 1927 wurden 251 Kleinkinder in Lübeck gegen Tuberkulose geimpft. Durch eine Verwechslung wurden anstelle des BCG-Impfstamms Tuberkuloseerreger benutzt. Nach sechs Jahren war ein knappes



Aus dem Saale für die allgemeinen Sitzungen.

Abb. 5

Der große Saal des Zirkus Renz, in dem am 4. August 1890 die erste allgemeine Sitzung des 10. Internationalen Medizinischen Kongresses abgehalten wurde. R. Virchow hielt die Begrüßungsrede, J. Lister sprach über Antisepsis und R. Koch „Über bakteriologische Forschung“. Hier kündigte R. Koch erstmalig an, daß er Substanzen gefunden habe, „welche nicht allein im Reagenzglas, sondern auch im Tierkörper das Wachstum der Tuberkelbazillen aufzuhalten, imstande ist“.

Drittel der Kinder (77 Fälle) verstorben, und sechs Kinder litten noch immer an der Krankheit. Knapp die Hälfte der Kinder (129 Fälle) erkrankte an Tuberkulose, gesundete aber wieder. Lediglich bei 39 Kindern traten während des gesamten Zeitraums überhaupt keine Anzeichen einer klinischen Tuberkulose auf. Obwohl eine daraufhin eingesetzte Kommission beweisen konnte, daß nicht der BCG-Impfstamm, sondern ein virulenter *M. tuberculosis*-Erreger eingesetzt worden war, konnte das Mißtrauen gegen den BCG-Impfstoff nur langsam abgebaut werden [35]. Heute ist *M. bovis* BCG der weitestverbreitete Lebendimpfstoff mit den geringsten Nebenwirkungen. Wie oben bereits geschildert, ist BCG jedoch ein ungenügender Stimulator von CD8 T-Lymphozyten und bewirkt im Erwachsenenalter keinen ausreichenden Schutz. Erschwerend kommt hinzu, daß BCG möglicherweise entscheidende Genbereiche, die protektive Antigene kodieren, im Verlauf der Attenuierung verloren hat. Wahrscheinlich führten einige der Gendeletionen zum Virulenzverlust und schwächten dabei gleichzeitig die Immunogenität des BCG-Impfstoffs ab.

Derzeit werden weltweit beträchtliche Anstrengungen unternommen, einen verbesserten Tuberkuloseimpfstoff zu entwickeln [3]. Die unterschiedlichen Impfstoffkandidaten sind in Tabelle 2 aufgeführt. Im wesentlichen können drei Strategien

Impfstoffkandidat	Bemerkung	
	Möglicher Vorteil	Möglicher Nachteil
Zytolysin-exprimierende r-BCG	Aktivierung von CD4 und CD8 T-Zellen	Fehlen Tuberkulose-spezifischer Antigene, Virulenz (?)
Tuberkulose-spezifische Antigen-exprimierende r-BCG	Protektive Antigene	Ungenügende CD8 T-Zellstimulation, Virulenz (?)
Tuberkulose-spezifische Antigen-exprimierende r-Impfstoffe	Aktivierung von CD4 und CD8 T-Zellen, protektive Antigene	Enges Antigenpektrum, Virulenz (?)
Sezerniertes Antigen in geeignetem Adjuvanz	Auswahl protektiver Antigene, geringe Nebenwirkungen	Ungenügende CD8 T-Zellstimulation, enges Antigenpektrum
Nackte DNA	Auswahl protektiver Antigene	Ungenügende CD4-T-Zellstimulation, enges Antigenpektrum, Persistenz (?)
Deletionsmutanten von <i>M. tuberculosis</i>	Aktivierung von CD4 und CD8 T-Zellen	Virulenz (?)

Tabelle 2
Impfstoffkandidaten gegen Tuberkulose

unterschieden werden, die zum Teil auch kombinierbar sind. Die erste Strategie beruht auf der Annahme, daß BCG erhebliche Vorteile besitzt und daher durch geeignete genetische Manipulationen verbessert werden sollte. Entsprechend sollte ein verbesserter BCG-Impfstoff ein breiteres Spektrum an T-Zellpopulationen stimulieren und *M. tuberculosis*-spezifische Antigene exprimieren. Die zweite Strategie beruht auf der Annahme, daß ein oder wenige protektive Antigene für den Impfschutz ausreichen. Diese Antigene können entweder von lebenden r-Bakterienträgern exprimiert werden oder in geeigneter Adjuvanzformulierung dargeboten werden. Alternativ ist auch die Impfung mit nackter DNA, welche die kodierenden Gene enthält, denkbar. Die dritte Strategie schließlich versucht, durch gezielte Deletion von Virulenzfaktoren *M. tuberculosis* zu attenuieren, ohne daß die protektiven Antigene verlorengehen. Aus obigen Ausführungen ist klar, daß sämtliche Strategien ihre Vor- und Nachteile haben und daß der bestmögliche Impfstoff letztendlich nur durch Vergleichsexperimente gefunden werden kann.

Schlußbemerkungen

Mikrobielle Infektionen haben die Menschheit von Anfang an begleitet, und häufig haben Seuchen unsere Geschichte stärker beeinflußt als Kriege. Dennoch gelang bislang keinem Krankheitserreger der vollständige Sieg über die Menschheit. Einige wenige Krankheitserreger verschwanden zwar im Laufe der Menschheitsgeschichte (am besten ist die Ausrottung der Pocken in Erinnerung, die von der Weltgesundheitsbehörde am 8. Mai 1980 verkündet wurde). Die heute bekannten Erreger aber konnten trotz enormer Anstrengungen nicht vernichtet werden. So hat sich ein balanciertes Wechselspiel zwischen Erreger und Wirtsabwehrkräften ausgebildet, das außerordentlich dynamisch ist und sich fortwährend weiterentwickelt. Es verwundert daher nicht, daß sich das Immunsystem, dem bei Säugern die Hauptaufgabe der Erregerbekämpfung zukommt, laufend weiterentwickelt, um den unterschiedlichen Strategien der Krankheitserreger gerecht zu werden. Mikroben haben die verschiedensten ökologischen Nischen dieser Erde erobert, und der menschliche Körper stellt nur einen von unzählig vielen Lebensräumen dar. Die Eroberung dieser Nischen gelang den Mikroben durch die „Strategie der Vielfalt“ [32]. Aufgrund ihrer Variationsfähigkeit entwickelten Mikroben kontinuierlich neue Eigenschaften, die ihnen die Besiedlung neuer Lebensräume ermöglichten. Die Überlebensstrategie höherer Organismen beruht dagegen auf der Entwicklung höherer Komplexität. Infektionskrankheiten können daher als Kampf zweier unterschiedlicher Überlebensstrategien verstanden werden, und die Frage, welche der beiden Strategien auf lange Sicht erfolgreicher ist, kann schwer beantwortet werden. Aufgrund der hohen Komplexität des Menschen stehen uns aber auch nicht-

immunologische Fähigkeiten zur Verfügung. Unsere Möglichkeiten zur Bekämpfung zahlreicher Infektionskrankheiten wurden durch Chemotherapeutika und Impfstoffe verbessert, die mit Hilfe unserer Intelligenz entwickelt wurden. Dennoch steht das Immunsystem zahlreichen anderen Erregern noch immer ohne Unterstützung gegenüber. Die tiefere Einsicht in unser Immunsystem, verbunden mit den neuen Erkenntnissen aus Molekulargenetik und Zellbiologie, ermöglicht die gezielte Entwicklung einer neuen Impfstoffgeneration zur Unterstützung unseres Immunsystems. Dies kann dazu beitragen, die Sorge von Louis Pasteur abzuwenden, daß es die Mikroben sind, die das letzte Wort haben werden („ce sont les microbes qui auront le dernier mot!“).

Danksagung

Die wissenschaftlichen Arbeiten des Autors werden finanziell durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 322 und Ka 573/3-2), das BMBF-Verbundprojekt „Mykobakterielle Infektionen“, das Interdisziplinäre Zentrum für Klinische Forschung an der Universität Ulm und das Deutsche Aussätzigenhilfswerk unterstützt. Ich danke Frau C. Möller und R. Mahmoudi für ihre wertvolle Hilfe.

Literatur

- 1 Koch, R.: Die Ätiologie der Tuberkulose. In: Berliner Klin. Wochenschr., 19 (1882), S. 221-230.
- 2 Kaufmann, S. H. E. & J. D. A. Van Embden: Tuberculosis: a neglected disease strikes back. In: Trends in Microbiol., 1 (1993), S. 2-5.
- 3 Kaufmann, S. H. E.: Antibacterial vaccines: Impact of antigen handling and immune response. In: J. Mol. Med., 75 (1997), S. 360-363.
- 4 Kaufmann, S. H. E. (Hg.): Host Response to Intracellular Pathogens. Austin: R. G. Landes Co., 1997.
- 5 Finlay, B. B. & P. Cossart: Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. In: Science, 276 (1997), S. 718-725.
- 6 Kaufmann, S. H. E.: Immunity to intracellular bacteria. In: Paul, W. E. (Hg.), Fundamental Immunology, 4. Auflage, Philadelphia: Lippincott-Raven, im Druck.
- 7 Kaufmann, S. H. E.: The roles of conventional and unconventional T cells in antibacterial immunity. In: ASM News, 63 (1997), S. 251-255.
- 8 Hess, J., Ladel, C., Miko, D. & S. H. E. Kaufmann: *Salmonella typhimurium* aroA⁻ infection in gene-targeted immunodeficient mice. Major role of CD4⁺ TCR-ab cells and IFN- γ in bacterial clearance independent of intracellular location. In: J. Immunol., 156 (1996), S. 3321-3326.

- 9 Ladel, C. H., Daugelat, S. & S. H. E. Kaufmann: Immune response to *Mycobacterium bovis* bacille Calmette Guerin infection in major histocompatibility complex class I- and II- deficient knock-out mice: contribution of CD4 and CD8 T cells to acquired resistance. In: Eur. J. Immunol., 25 (1995), S. 377-384.
- 10 Ladel, C. H., Flesch, I. E. A., Arnoldi, J. & S. H. E. Kaufmann: Studies with MHC deficient knock-out mice reveal impact of both MHC I and MHC II dependent T cell responses in *Listeria monocytogenes* infection. In: J. Immunol., 153 (1994), S. 3116-3122.
- 11 Flynn, J. L., Goldstein, M. M., Triebold, K. J., Koller, B. & B. R. Bloom: Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. In: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89 (1992), S. 12013-12017.
- 12 Kaufmann, S. H. E.: Immunity to intracellular bacteria and protozoa. In: The Immunologist, 3 (1995), S. 221-225.
- 13 Hess, J., Gentschev, I., Miko, D., Welzel, M., Ladel, C., Goebel, W. & S. H. E. Kaufmann: Superior efficacy of secreted over somatic antigen display in recombinant Salmonella vaccine induced protection against listeriosis. In: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 (1996), S. 1458-1463.
- 14 Gentschev, I., Sokolovic, Z., Mollenkopf, H.-J., Hess, J., Kaufmann, S. H. E., Krohne, G. F., Goebel, W. & M. Kuhn: *Salmonella* secreting active listeriolysin changes its intracellular localization. In: Infect. Immun., 63 (1995), S. 4202.
- 15 Kaufmann, S. H. E., Rodewald, H. R., Hug, E. & G. De Libero: Cloned *Listeria monocytogenes* specific non-MHC-restricted Lyt2⁺ T cells with cytolytic and protective activity. In: J. Immunol., 140 (1988), S. 3173-3179.
- 16 Lenz, L. L. & M. J. Bevan: H2-M3 restricted presentation of *Listeria monocytogenes* antigens. In: Immunol. Rev., 151 (1996), S. 107-121.
- 17 Szalay, G., Ladel, C. H. & S. H. E. Kaufmann: Stimulation of protective CD8⁺ T lymphocytes by vaccination with nonliving bacteria. In: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92 (1995), S. 12389-12392.
- 18 Porcelli, S. A.: The CD1 family: A third lineage of antigen-presenting molecules. In: Adv. Immunol., 59 (1995), S. 1-98.
- 19 Beckman, E. M., Porcelli, S. A., Morita, C. T., Behar, S. M., Furlong, S. T. & M. B. Brenner: Recognition of a lipid antigen by CD1-restricted ab⁺ T cells. In: Nature, 372 (1994), S. 691-694.
- 20 Sieling, P. A., Chatterjee, D., Porcelli, S. A., Prigozy, T. I., Mazzaccaro, R. J., Soriano, T., Bloom, B. R., Brenner, M. B., Kronenberg, M., Brennan, P. J. & R. L. Modlin: CD1-restricted T cell recognition of microbial lipoglycan antigens. In: Science, 269 (1995), S. 227-230.
- 21 Kaufmann, S. H. E.: $\gamma\delta$ and other unconventional T lymphocytes: What do they see and what do they do? In: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 (1996), S. 2272-2279.
- 22 Ladel, C. H., Blum, C., Dreher, A., Reifenberg, K. & S. H. E. Kaufmann: Protective role of $\gamma\delta$ T cells and α/β T cells in tuberculosis. In: Eur. J. Immunol., 25 (1995), S. 2877-2881.

- 23 Mombaerts, P., Arnoldi, J., Russ, F., Tonegawa, S. & S. H. E. Kaufmann: Different roles of α/β and $\gamma\delta$ T cells in immunity against an intracellular bacterial pathogen. In: *Nature*, 365 (1993), S. 53-56.
- 24 Tanaka, Y., Morita, C. T., Nieves, E., Brenner, M. B. & B. R. Bloom: Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human $\gamma\delta$ T cells. In: *Nature*, 375 (1995), S. 155-158.
- 25 Kaufmann, S. H. E., Emoto, M., Szalay, G., Barsig, J. & I. E. A. Flesch: Interleukin 4 and listeriosis. In: *Immunol. Rev.*, 158 (1997), S. 95-105.
- 26 Fearon, D. T. & R. M. Locksley: The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. In: *Science*, 272 (1996), S. 50-54.
- 27 Abbas, A. K., Murphy, K. M. & A. Sher: Functional diversity of helper T lymphocytes. In: *Nature*, 383 (1996), S. 787-793.
- 28 Trinchieri, G.: Interleukin-12: A proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. In: *Annu. Rev. Immunol.*, 13 (1995), S. 251-276.
- 29 Murray, H. W.: Interferon-gamma and host antimicrobial defense: current and future clinical applications. In: *Am. J. Med.*, 97 (1994), S. 459-467.
- 30 Dannenberg, A. M., Jr.: Delayed-type hypersensitivity and cell-mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis. In: *Immunol. Today*, 12 (1991), S. 228-233.
- 31 MacMicking, J., Xie, Q. & C. Nathan: Nitric oxide and macrophage function. In: *Annu. Rev. Immunol.*, 15 (1997), S. 323-350.
- 32 Kaufmann, S. H. E.: Die Familie der Mycobacteriaceae. In: Brandis, H., Köhler, W., Eggers, H. J. & G. Pulverer (Hg.), *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie*, Stuttgart/New York: Gustav Fischer Verlag, 1994, S. 544-562.
- 33 Koch, R.: Ueber bakteriologische Forschung. In: *Verhandlungen des X. Internationalen Medicinischen Congresses*, 1 (1891), S. 35-47.
- 34 Calmette, A.: *La Vaccination Préventive contra la Tuberculosis*, Paris: Masson et Cie., 1927.
- 35 Anonymus: *Die Säuglingstuberkulose in Lübeck*, Berlin: Julius Springer, 1935.
- 36 Gould, S. J.: *Full House: The Spread of Excellence from Plato to Darwin*. Harmony Books, 1996.