

Analysis of Early Mucosal Immune Responses upon Salmonella Infection

Doctoral Thesis

Author(s):

Müller, Anna Angelika

Publication date:

2016

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010659178>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH NO. 23387

Analysis of Early Mucosal Immune Responses upon *Salmonella* Infection

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCE of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Anna Angelika Müller

M.Sc. Biological Sciences, Universität Konstanz

Born April 28th 1986

Citizen of Germany

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Wolf-Dietrich Hardt

Prof. Dr. Manfred Kopf

Prof. Dr. Mathias Heikenwälder

2016

Summary

The intestinal barrier is a key site to limit microbial access to the body. However, foodborne pathogens, including the enteropathogenic bacterium *Salmonella enterica* subspecies 1 serovar Typhimurium (*S.Tm*), have developed strategies to overcome mucosal defenses and utilize the intestine as port of entry. In order to fight this threat efficiently, the intestinal mucosa is equipped with the largest immune compartment of the body - the mucosal immune system. Effector cells of the immune system have evolved special sensors to detect pathogen insults and are able to rapidly mount an effective tissue defense, resulting in mucosal inflammation and ultimately pathogen clearance. Although animal models like the streptomycin mouse model for *Salmonella* diarrhea have provided significant insights into the host immune responses towards infection, the complex pathogen-host interactions remain to be elusive. This thesis focuses on the early immune processes in response to *S.Tm* infection by deciphering mechanisms that switch the mucosa from homeostasis to overt inflammation.

Upon mucosal infection, intracellular *S.Tm* is detected in the intestinal epithelium by inflammasome sensors of the NLRC4 inflammasome complex. *S.Tm* recognition activates not only an epithelium-intrinsic defense but also enables the onset of mucosal inflammation. In this work, we describe the pro-inflammatory cytokine IL-18 as a mechanistic link between *S.Tm* detection and the onset of mucosal inflammation. Caspase-1-dependent IL-18 promotes the migration and accumulation of mature NK cells in the infected intestinal mucosa. The early NK cell response was accelerating the onset of mucosal inflammation via perforin-mediated NK cell cytotoxicity, as NK cell depletion and *Prf* ablation both delayed tissue inflammation. Thus, activation of the IL-18/NK cell axis drives the mucosal defense during early *S.Tm* infection.

In addition to NK cells recruitment, we found that neutrophils accumulate early in the infected mucosa in a partially IL-18-dependent process. Neutrophils are a hallmark cell type of *S.Tm* infection, often associated with tissue inflammation. However, neutrophils do not contribute to early mucosal pathology but represent an additional layer of mucosal protection by preventing excessive *S.Tm* tissue invasion.

The two pro-inflammatory cytokines IL-18 and IFN γ are important factors of host defense against *S.Tm* in the intestinal mucosal and at systemic sites. Using mixed-inoculum experiments, we found that luminal pathogen control occurs predominantly independent of

IL-18 and IFN γ , while pathogen containment at systemic sites was critically dependent on IFN γ and partially fostered by IL-18. Furthermore, WITS composition at systemic sites in IFN γ -deficient animals indicates that the pathogen population seeds the organs via a common route.

Overall, this work contributes to a better understanding of early immune processes, leading from the first recognition of the pathogen to a mucosal defense. The presented data might provide new aspects to ameliorate the disease and interfere with its progression.

Zusammenfassung

Die natürliche Barriere der Darmschleimhaut schützt unseren Körper vor dem ungewollten Eintritt durch Mikroorganismen. Jedoch konnten Darmerreger, wie *Salmonella enterica* spp. I Serovar Typhimurium (S.Tm), Strategien zur Überwindung der mukosalen Abwehr entwickeln, die ihnen ermöglichen den Darm als Eintrittsstelle für eine lokale Infektion zu nutzen. Zur effizienten Bekämpfung dieser Bedrohungen ist die Darmschleimhaut mit dem größten Immunkompartiment unseres Körpers ausgestattet -dem mukosalen Immunsystem. Effektor Zellen des Immunsystems verfügen über spezielle Sensoren, die ihnen eine schnelle Detektion des Pathogens ermöglichen. Dies ruft eine Schutzreaktion im Gewebe hervor, die durch eine lokale Entzündung begleitet wird, jedoch auch die Beseitigung des Pathogens ermöglicht. Tiermodelle, wie das Streptomycin-Mausmodell für *Salmonellen* bedingte Darmerkrankungen, haben uns wichtige Einblicke in die Infektions-bedingte Immunantwort ermöglicht, jedoch ist unser Verständnis der komplexen Pathogen-Wirts Interaktionen weiterhin unvollständig. Die vorliegende Arbeit legt das Augenmerk auf frühe Immunprozesse infolge einer S.Tm Infektion, insbesondere durch die Identifikation von Mechanismen, die den Wandel von Homöostase hin zu einer Entzündungsreaktion bedingen.

Eine lokale Salmonelleninfektion der Darmschleimhaut wird im Darmepithel durch Inflammasom Sensoren des NLR4-Inflammasomkomplexes erkannt. Neben der Aktivierung einer epithel-intrinsischen Abwehr führt dies zu einer Entzündung der Darmschleimhaut. In dieser Arbeit beschreiben wir den funktionellen Link zwischen Pathogen Erkennung und der Entstehung einer Darmschleimhautentzündung durch das pro-inflammatorische Zytokin IL-18. Caspase-1 abhängige Aktivierung von IL-18 fördert die Migration von NK Zellen und somit die Akkumulation von maturierten, aktivierten NK Zellen in der infizierten Darmschleimhaut. Diese frühe NK Zell Antwort löst eine Entzündung der Darmschleimhaut durch eine Perforin-abhängige NK Zell-Zytotoxizität aus, da Versuche mit NK Zell Depletion und *Prf*-Ablation eine verlangsamte Entzündungsreaktion zeigen. Somit stellt die IL-18/NK Zell Achse eine wichtige Komponente der frühen Darmabwehr in Salmonelleninfektionen dar.

Neben der Rekrutierung von NK Zellen, konnten wir eine Akkumulation von Neutrophilen in der infizierten Darmschleimhaut feststellen, die ebenfalls partiell abhängig von IL-18 ist. Der Eintritt von Neutrophilen in die Darmschleimhaut ist ein typisches Kennzeichen der Infektion mit S.Tm und wird häufig mit dem Auftreten einer Gewebsentzündung assoziiert.

Jedoch tragen Neutrophile in der frühen Phase der Infektion nicht zu einer erhöhten Pathologie der Darmschleimhaut bei, sondern bilden vielmehr eine weitere Komponente der Darmabwehr, indem sie ein vermehrtes Eindringen von *S.Tm* in das Darmgewebe verhindern.

Die beiden pro-inflammatorischen Zytokine IL-18 und IFN γ spielen eine wichtige Rolle in der Immunabwehr gegen *S.Tm*, sowohl in der Darmschleimhaut als auch in systemischen Organen. Experimente mit gemischten Inokula zeigten, dass die Kontrolle der Pathogen Population im Darmlumen weitgehend unabhängig von IL-18 und IFN γ stattfindet, während die Eindämmung des *S.Tm* Wachstums in systemischen Organen IFN γ dringend benötigt und durch IL-18 positiv beeinflusst wird. Zudem weist die WITS-Komposition in den systemischen Organen von IFN γ -defizienten Tieren darauf hin, dass die Pathogen Population die Organe über eine gemeinsame Route infiziert.

Die hier präsentierten Daten tragen zu einem besseren Verständnis der frühen mukosalen Immunantwort bei und bieten vielleicht neue Aspekte zur Behandlung von Darminfektionen und zur Verminderung ihrer Progression.