

DISS. ETH NO. 18275

EVOLUTIONARY ECOLOGY OF SPECIFICITY IN
INVERTEBRATE IMMUNE DEFENCE

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

OLIVIA ROTH

Msc., University of Basel

Date of Birth: 15th of January 1983

Citizen of

St.Gallen-Tablat / SG

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Paul Schmid-Hempel, examiner

Prof. Dr. Joachim Kurtz, co-examiner

Prof Dr. Jukka Jokela, co-examiner

2009

Zusammenfassung

Parasiten reduzieren die Fitness ihrer Wirte und verursachen daher einen ständigen Selektionsdruck auf ihre Wirte, indem sie beispielsweise neue Wege evolvieren, um der Wirtsabwehr zu entfliehen. Dieses kann zu einem koevolutiven Wettlauf („arms-race“) zwischen Wirten und Parasiten führen, der letztlich auch für die evolutive Entwicklung von effizienten Immunsystemen verantwortlich ist. Immunsysteme sind fähig, immer wieder auf neue Parasiten zu reagieren. Immunsysteme werden traditionell in das angeborene Immunsystem, das beinahe alle Organismen besitzen, und das phänotypisch plastische, erworbene (oder „adaptive“) Immunsystem unterteilt. Von letzterem nimmt man allgemein an, dass nur Wirbeltiere (Vertebraten) es besitzen. Aber wie sollen Invertebraten mit der enormen Diversität von rasch evolvierenden Parasiten und Pathogenen Schritt halten, wenn ihr Immunsystem nicht die Fähigkeit besitzen würde, sich phänotypisch an die Parasiten zu adaptieren?

In der vorliegenden Arbeit habe ich die phänotypische Plastizität des Immunsystems von Invertebraten untersucht. Dabei bin ich insbesondere auf die Spezifität von induzierten Immunreaktionen eingegangen. Sogenanntes spezifisches „Immune priming“ vermittelt eine verstärkte Immunreaktion und Schutz gegen einen zweiten Kontakt mit demselben Pathogen. Des Weiteren habe ich Generationen-übergreifende Immunaktivierung, sog. „trans-generational immune priming“, untersucht, also den Transfer von elterlicher Immunerfahrung zum Nachwuchs, und bin auf die Kosten von derartiger induzierter Immunität eingegangen.

Die Resultate dieser Arbeit zeigen, dass die Immunantwort von *Tribolium castaneum* mit einer unerwartet hohen Spezifität reagieren kann. Das vermeintlich einfache Immunsystem dieses Käfers kann zwischen verschiedenen Genotypen derselben Bakterien-Art unterscheiden und reagiert mit sehr wenig Kreuzreaktivität gegenüber anderen Bakterien.

In der Assel *Porcellio scaber* fanden wir, dass diese Spezifität in der zellulären Immunantwort begründet sein könnte. Nach einem ersten Kontakt mit Hitze-getöteten

Bakterien zeigten aus dem Käfer entnommene Immunzellen (Hämocyten) *in vitro* eine verstärkte Phagozytose desselben Bakterienstammes im Vergleich zu fremden Bakterienarten oder -stämmen.

Eltern, die Kontakt mit Pathogenen hatten, können ihre Nachkommen durch das Weitergeben von Immunität gegen Infektionen schützen. Bislang wurde dies jedoch nur für Mütter nachgewiesen. In dieser Arbeit konnte dargelegt werden, dass sogar Väter Immunität an ihre Nachkommen weitergeben. Es scheint, dass Väter ihren Nachwuchs durch eine eher generelle Hochregulierung der Immunantwort schützen, Mütter hingegen investieren in die spezifische Immunantwort ihrer Nachkommen. Dieses „paternale immune priming“ könnte die traditionelle Ansicht, dass v.a. Weibchen über die Eier in ihre Nachkommen investieren, verändern. Zudem sollten in Zukunft nicht nur maternale, sondern auch paternale Effekte in Experimenten und Modellen über Wirt-Parasiten-Koevolution berücksichtigt werden.

Immunantworten beinhalten auch Kosten, zum Beispiel auf Grund von dafür benötigten Ressourcen. Wir fanden Hinweise, dass *T. castaneum* solche Kosten durch eine Veränderung der Lebensgeschichte, insbesondere der Entwicklungsdauer, nach einem Kontakt mit hitze-getöteten Bakterien kompensieren kann. Das Immunsystem hat vielleicht nicht nur im Kampf gegen die Parasiten eine wichtige Rolle, sondern es könnte auch als „Sensor“ dienen, um die Parasiten-Situation in der Umwelt zu beurteilen, um bei einem erhöhten Risiko einer Infektion die Lebensgeschichte zu optimieren.

Die Resultate dieser Arbeit und Studien der letzten Jahre in diesem Feld zeigen auf, dass trotz zu vermutenden unterschiedlichen molekularen Ursachen das Phänomen von adaptiver Immunantwort im weiteren Sinne mehrmals evolviert sein muss, was aufgrund der ähnlichen Belastung verschiedenster Wirts-organismen durch Parasiten und Pathogene auch naheliegt. Die Aufteilung des Immunsystems in die Kategorien „angeboren“ und „erworben“ sollte daher überdacht werden, denn Immunsysteme stellen eventuell zumeist eine Kombination von beidem dar.

Summary

Parasites have a negative impact on the fitness of their hosts and impose strong selection pressure on them by continually evolving new ways to evade host defence. This has led to arms-races between hosts and parasites and the evolution of efficient immune systems that are able to fight foreign parasites. Immune systems were traditionally divided into the genetically encoded innate immune system shared by nearly all organisms, and the phenotypic plastic adaptive immune system that was thought to be restricted to vertebrates. But how should invertebrates fight against the enormous diversity of permanently evolving parasites and pathogens with an immune system lacking the ability to phenotypically adapt to the parasitic fauna present in the environment?

In this thesis I investigated the phenotypic plasticity of the immune system of an invertebrate. I focused on the issues of specific immune priming, where initial immune priming leads to a subsequent increased immunity and protection upon secondary exposure with the same pathogen; trans-generational immune priming, the transfer of parental immune experience to the offspring; and costs of immune system up-regulation.

The data presented here suggests a high degree of specificity in the immune system of the red flour beetle *Tribolium castaneum*. Its seemingly simple immune system possesses the ability to differentiate among strains of the same bacterial species and to react with a low degree of cross-reactivity towards novel bacteria.

In the woodlouse *Porcellio scaber* immunological specificity relies on the cellular immune defence, namely phagocytosis of foreign particles. After immune priming with heat-killed bacteria, hemocytes enhanced phagocytosis of this respective bacterium compared to other bacteria. Such specificity in phagocytosis allowed differentiating between strains of the same bacterial species.

In several species it has been demonstrated that parental immune priming can enhance offspring immune defence. However, as yet such “trans-generational immune priming” seemed restricted to mothers. Here, we show that also fathers seem to transmit such

information to offspring, which is astonishing, since they contribute small sperm rather than large eggs. Moreover, fathers protect their offspring more generally as compared to mothers. This finding sheds new light on how immune systems are regulated and also challenges the view that only females, via their eggs, invest into offspring in species where there is no further brood care and eggs are abandoned. Apart from its general significance for understanding the regulation of immune systems, our finding also challenges the conventional view that only maternal effects are important in trans-generational experiments and models of host-parasite coevolution.

Immune defence comes at a cost due to a resource-allocation trade-off. We demonstrated that *T. castaneum* potentially compensates for the imposed costs after immune priming with heat-killed bacteria by a shift in life-history. This proposes that the immune system may not only play a direct role for defence against parasites, but could serve as a “sensor” for obtaining information from the environment as to the presence of pathogens, thereby allowing for optimization of the host life history in anticipation of the risk of infection.

The results of this thesis coupled with recent studies in the field suggest that even though molecular mechanisms mediating specificity in immune defence differ among taxa, the phenomenon of adaptive immunity must have evolved independently in several lineages, due to similar pressures from parasites and pathogens. Accordingly, a strict separation of immune systems into the two categories of innate and adaptive immunity may not be useful on the long term, as immune systems may neither be innate nor adaptive but mostly a combination of it.