

Abstract

Neutrophils release neutrophil extracellular traps (NETs), large structures composed of chromatin decorated with proteins and peptides, that are processed into antimicrobial peptide (AMP):DNA complexes. One NET-associated AMP, the human cathelicidin/LL37, is crucial for human host defense against mycobacterial infection. As mycobacteria typically infect human macrophages, it is hypothesized in this study that cathelicidin/LL37 complexed with DNA contributes to the antimycobacterial response of human macrophages. It is shown here that mycobacteria-infected neutrophils released NETs in reactive oxygen species (ROS)-dependent manner. Ejected NETs contained cathelicidin/LL37 and trapped mycobacteria. In turn, cathelicidin originating from NETs as well as *in vitro*-generated LL37:DNA complexes were internalized into macrophage lysosomes. Internalization of LL37:DNA complexes into macrophages was dependent on the P2X₇ receptor and clathrin-dependent endocytosis. In lysosomes of mycobacteria-infected human macrophages, DNA from LL37:DNA complexes was degraded, resulting in the release of LL37 that integrated into bacterial membranes. Finally, LL37:DNA complexes inhibited mycobacterial growth inside macrophages. Together, the data provide a novel mechanism how NETs/ LL37:DNA complexes contribute to antimycobacterial activity inside human macrophages.

Zusammenfassung

Neutrophile stoßen 'Neutrophil Extracellular Traps' (NETs) aus, große Strukturen aus Chromatin besetzt mit Proteinen und Peptiden, die zu antimikrobiellen Peptid (AMP):DNA Komplexen prozessiert werden. Ein NET assoziiertes AMP, das humane Cathelicidin/LL37, ist wichtig für die Bekämpfung von mykobakteriellen Infektionen im menschlichen Körper. Da Mykobakterien typischerweise humane Makrophagen befallen, wird in dieser Studie die Hypothese aufgestellt, dass Cathelicidin/LL37 gebunden an DNA zur antimykobakteriellen Antwort von humanen Makrophagen beiträgt. Es wird gezeigt dass Mykobakterien-infizierte Neutrophile NETs abhängig von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) ausstießen. Die ausgestoßenen NETs enthielten Cathelicidin/LL37 und fingen Mykobakterien ein. Cathelicidin aus NETs sowie *in vitro* erzeugte LL37:DNA Komplexe wurden in die Lysosomen von Makrophagen internalisiert. Internalisierung von LL37:DNA Komplexen in Makrophagen wurde durch den P2X₇ Rezeptor sowie Clathrin-abhängige Endozytose vermittelt. In Makrophagenlysosomen wurde die DNA von LL37:DNA Komplexen abgebaut, was zur Freisetzung von LL37 und dessen Einlagerung in bakterielle Membranen führte. Schließlich wird gezeigt, dass LL37:DNA Komplexe das mykobakterielle Wachstum in Makrophagen inhibierten. Insgesamt beschreiben die Daten einen neuen Mechanismus wie NETs/ LL37:DNA Komplexe zur antimykobakteriellen Antwort in humanen Makrophagen beitragen.