

Aus der AG Experimentelle Pneumologie (Sprecher: Prof. Dr. Michael Kabesch, Hannover)

Forschungs-Highlights 2010



Michael Kabesch, Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie

Die AG Experimentelle Pneumologie der GPP wächst und kann auch für das vergangene Jahr auf einige Highlights aus den Grundlagenforschungsgruppen verweisen. Auch die Schweiz ist nun mit einer Grundlagenforschungsgruppe in der AG vertreten. Mehrere Gruppen sind an den beiden Lungen-SFBs der DFG mit Standorten in Hannover (SFB587) und München (SFBTR22) beteiligt und auch an der Gestaltung des Deutschen Lungenzentrums nehmen mit den Forschungsgruppen von Marcus Mall (Heidelberg), Gesine Hansen und Michael Kabesch (Hannover) sowie Bianca Schaub (München) mehrere Mitglieder der AG Experimentelle Pneumologie teil. Besonders erfreulich ist, dass eine zunehmende Vernetzung der Gruppen in der AG stattfindet, die über das Treffen am GPP-Kongress hinausgeht (die aktiven Gruppen in der AG sind in der Tabelle zusammengefasst). Es lohnt sich auch heuer wieder, einen Blick in die Arbeiten der Forschungsgruppen zu werfen. Im Folgenden finden Sie eine kurze und keineswegs als vollständig zu betrachtende Auswahl der Forschungs-Highlights des Jahres 2010. Bei der GPP-Jahrestagung in Graz wird die AG auch wieder eine spezielle Postersession mit aktuellen

Grundlagenarbeiten präsentieren.

Schwerpunkt Lungenentwicklung und Lungenschädigung

Die **Arbeitsgruppe von Wolfgang Bernhard** ist in der **Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin in Tübingen, Abteilung Neonatologie**, tätig. Dort bearbeitet sie die Regulation der (Phospho-)Lipidhomöostase von Lunge und Leber sowie die Ernährung Frühgeborener. Schwerpunkte sind Stoffwechseluntersuchungen mit stabiler Isotopenmarkierung, auch bei Patienten, und Tandem-Massenspektrometrie. Adressiert werden vorwiegend Frühgeburtlichkeit, Phospholipidhomöostase bei Steatohepatitis und Cystischer Fibrose sowie die Regulation der molekularen Surfactant-Variabilität und ihre lokalen immunologischen/protektiven Konsequenzen durch exogene Fettsäuren und rekombinanten Keratinozytenwachstumsfaktor (rhKGF, Kevipance®) als Perspektive zur pulmonalen Behandlung Frühgeborener. Die Arbeitsgruppe hat gezeigt, dass rhKGF den Surfactant-Status und die Expression von Surfactantproteinen unreifer Lungen gleichwertig zu Glukokortikoiden verbessert, ohne die Nebenwirkungen systemischer

Aktive und assoziierte Mitglieder der AG Experimentelle Pneumologie

(weitere Mitglieder gerne erwünscht!)

AG Philippe Stock	Charité Berlin
AG Jörg Mattes	UK Freiburg
AG Christiane Lex	UK Halle
AG Anna Dittrich	MHH Hannover
AG Michael Kabesch	MHH Hannover
AG Gesine Hansen	MHH Hannover
AG Marcus Mall	UK Heidelberg
AG Bianca Schaub	LMU München
AG Joseph Rosenecker	LMU München
AG Stefan Zielen	UK Frankfurt
AG Dominik Hartl	UK Tübingen
AG Wolfgang Bernhard	UK Tübingen
AG Andreas Jung	SIAF Davos
AG Jürgen Schwarze	University of Edinburgh
AG Hartmut Grasemann	University of Toronto

Tab. 1

Glukokortikoide wie Wachstumsstillstand und Hemmung der physiologischen Pneumozytenproliferation zu induzieren. Die Untersuchung des Surfactantstoffwechsels am Menschen in vivo mit deuteriummarkiertem Cholin wurde auf die differenzielle Untersuchung der Stoffwechselwege und der Sekretion hepatischer Phospholipide ausgedehnt [1]. Die Arbeitsgruppe hat weiterhin die Mechanismen der präferenziellen Anreicherung von Myristinsäure im pulmonalen Surfactant aufgeklärt [2] und adressiert nach In-vitro-Vorarbeiten momentan immunregulative Wirkungen von My-

ristinsäure und myristinsäure-reichem Surfactant der Lunge in vivo.

Im Forschungsmittelpunkt der **Frankfurter Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Stefan Zielen** stehen die Charakterisierung der bronchialen Entzündung und der Einfluss von Ernährung (PUFAs wie EPA und DHA) sowie Wachstumsfaktoren bei Asthma und Mukoviszidose sowie die seltene genetische Erkrankung Ataxia teleangiectasia. Die Erkrankung Ataxia teleangiectasia und das entsprechende *Atm*-Knock-out-Mausmodell wird von PD Dr. Ralf Schubert (Laborleiter) be-

forscht. Im Mittelpunkt steht hierbei die therapeutische Forschung von Substanzen (Antioxidantien, GH, IGF-1, Wachstumsfaktoren), die das Voranschreiten der Lungenerkrankung und Tumorgenese inhibieren. Die Frankfurter Arbeitsgruppe hat 2010 eine eigene Internetseite für Ärzte und Betroffene zu diesem Thema etabliert (www.info-AT.de).

Im Rahmen eines Auslandsstipendiums der GPP bei Prof. Bruce Levy und Prof. Charles Serhan in Boston erwarb Dr. Olaf Eickmeier aus der Frankfurter Arbeitsgruppe spezielle Kenntnisse im Bereich der akuten pulmonalen Schädigung und im Bereich neuer Lipidmediatoren (Resolvine, Protektine, Maresine, Lipoxine). Um neue Therapiestrategien zur Behandlung und Prophylaxe einer akuten pulmonalen Schädigung zu entwickeln, wurde das in Boston erlernte „Acute Lung Injury“-Mausmodell in Frankfurt etabliert. Eine Übersicht „Pro-Resolving Lipid Mediators in Inflammatory Lung Diseases“ publizierte Dr. Eickmeier 2010 in der Zeitschrift *Pneumologie*. Weitere Schwerpunkte der Arbeitsgruppe sind die Asthma- und Allergieforschung.

Schwerpunkt Pulmonale Inflammation und CF

Die **Arbeitsgruppe von Dominik Hartl** ist vom Dr. von Hainerschen Kinderspital der LMU München an die **Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin in Tübingen, Abteilung Infektiologie und Immunologie**, gezogen. Dort bearbeitet die Arbeitsgruppe weiter das Hauptforschungsgebiet „Immunmechanismen chronischer Lungenerkrankungen“ mit dem Schwerpunkt Cystische Fibrose. In den vergangenen zwei

Jahren beschäftigte sich das Forschungsteam von Dominik Hartl mit einer neuen Funktion neutrophiler Granulozyten, der *neutrophil extracellular trap* (NET) formation. Hierbei handelt es sich buchstäblich um ein Netz aus DNA, das von Neutrophilen ausgeworfen wird, um Keime besser „einzufangen“. Hartl und Mitarbeiter konnten zeigen, dass Atemwegsflüssigkeiten von CF-Patienten eine hohe Dichte an NETs enthalten ([3], *PLoS One* in press), die über einen CXCR2-abhängigen NADPH-Oxidase-unabhängigen

Universität Heidelberg hat ein neues konditionales Mausmodell entwickelt, das es in Zukunft erlauben wird, Kandidatengene in der Lunge konditional an- oder abzuschalten und dadurch entwicklungsunabhängige Pathogenese und Reparaturmechanismen zu untersuchen [4]. Die Arbeitsgruppe konnte erstmals zeigen, dass der epitheliale Ionentransport bei allergischer Atemwegs-entzündung in vivo moduliert (ENaC-vermittelte Na⁺-Resorption und Cl⁻-Sekretion) wird, was eine wichtige Rolle bei der

sucht in einer multizentrischen Studie grundlegende Mechanismen der T-Zell-vermittelten pulmonalen Inflammation. Hierbei soll der immunologische Verlauf der Lungenerkrankung bei CF von der Geburt bis zur Lungentransplantation charakterisiert werden. Ziel ist es, neue Biomarker zu identifizieren, um die Atemwegsentzündung frühzeitig zu erkennen und im Verlauf zu überwachen und den Erfolg anti-inflammatorischer und antibiotischer Therapien zu beurteilen. In der Folge sollen therapeutische Targets für eine gezielte anti-inflammatorische Therapie entwickelt werden, um den entzündungsbedingten fibrotischen Umbau der Lunge einzudämmen und somit die Lungenfunktion langfristig zu stabilisieren.

In der aktuellen Studie wird die Rolle von Th17-Zellen bei der CF-Lungenerkrankung untersucht. Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Pathogen-induzierten neutrophilen Entzündung. Aus dem Tiermodell ist bekannt, dass Mikroorganismen wie *P. aeruginosa* und *A. fumigatus* eine Entzündungsreaktion über den Th17-Signalweg auslösen. Erste Ergebnisse aus der Arbeitsgruppe belegen, dass die chronische Lungenentzündung bei CF durch Th17-Zellen und andere Interleukin-17-produzierende Zellen unterhalten und durch CF-typische Mikroorganismen (*P. aeruginosa*, *A. fumigatus*) getriggert wird. Im weiteren Verlauf soll der Frage nachgegangen werden, ob die bei CF-Patienten typische chronische Kolonisation der Lunge mit *P. aeruginosa* und anderen Mikroorganismen zum Teil in einer Imbalance zwischen Th17-Zellen und regulatorischen T-Zellen (Treg), die Gegenspieler der Th-17-induzierten Entzündung darstellen, begründet ist.

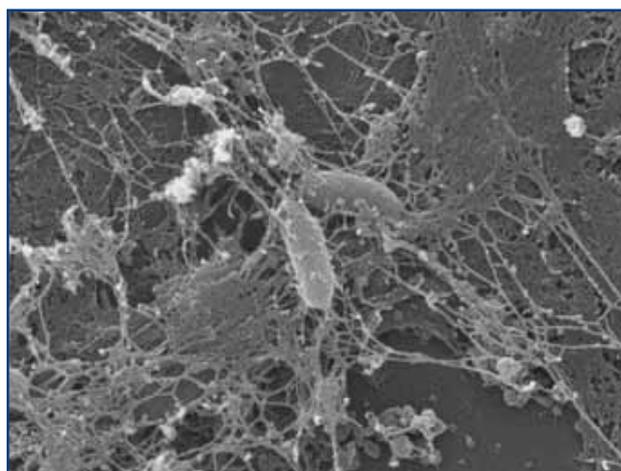


Abb. 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von zwei stäbchenförmige Bakterien, eingeschlossen in den NETs bei Mukoviszidose-Patienten (© *Nat Med.* 2010 Sep 5) [3].

Weg generiert werden. In Folgestudien werden nun die biochemischen Eigenschaften und immunologischen Effekte der NETs untersucht. Eine klinische Studie ist geplant, um zu erforschen, ob NET-Formation klinisch durch CXCR2-Inhibition kontrolliert werden kann. Die Arbeiten werden durch das Emmy-Noether-Programm der DFG, durch die Thyssen-Krupp-Stiftung und die Pharmaindustrie unterstützt.

Die **Arbeitsgruppe von Marcus Mall** an der **Kinderklinik III** der

Aufrechterhaltung der MCC bei Mukushypersekretion spielen könnte [5]. In weiteren Projekten wurden die Mechanismen der Regulation des ASL erforscht [6] und ein biochemisches Neugeborenencreening in Baden-Württemberg aufgebaut, das nicht auf DNA-Analyse beruht [7]. Nicht zu vergessen und besonders erwähnenswert ist die gute und erfolgreiche Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Dominik Hartl [3].

Die **Arbeitsgruppe von Andreas Jung** am **SIAF Davos** unter-

Auch hierfür gibt es erste Hinweise in der laufenden Untersuchung. Die Studie wird derzeit an den CF-Zentren in Wien, Davos, Zürich, Bern, Lausanne, Genf, Berlin, Hannover und München durchgeführt; die entnommenen Proben (Blut, BAL und Lungengewebe) werden zentral am SIAF Davos untersucht. Weitere interessierte Zentren können sich beim Studienleiter melden. Die Studie wird finanziell unterstützt vom Mukoviszidose e.V.

Schwerpunkt Asthma und Allergie

Die Arbeitsgruppe von **Anna Dittrich an der MHH Hannover** untersucht in Mausmodellen die immunologischen Grundlagen der Sensibilisierung mit besonderem Augenmerk auf das Phänomen der Polysensibilisierung. In den vergangenen zwei Jahren wurden Modelle für gastrointestinale Allergien und allergische Hautreaktionen entwickelt, in denen aktuell untersucht wird, ob in diesen Organismen die immunologischen Mechanismen, die die Sensibilisierung steuern, ähnlich sind wie die Mechanismen, die von der Arbeitsgruppe bereits für die Lunge beschrieben wurden. Hinsichtlich der Lunge konnte in den vergangenen zwei Jahren gezeigt werden, dass nicht nur Th2-polarisierte Atemwegs-entzündungen, sondern auch Th1- und Th17-polarisierte Atemwegs-entzündungen Neusensibilisierungen erleichtern. Die Daten bezüglich der Th17-vermittelten erleichterten Sensibilisierung sind von besonderem Interesse, da eine Beteiligung von Th17-Zellen und möglicherweise auch von hierbei rekrutierten Neutrophilen bei Glukokortikoid-resistentem Asthma bronchiale diskutiert

wird. Erste Ergebnisse unter Verwendung von spezifischen Antikörpern, die eine temporäre Neutropenie auslösen, legen jedoch nahe, dass Neutrophile hier nur eine geringe Rolle spielen. Diese Ergebnisse sind aktuell zur Publikation eingereicht. Die Projekte werden durch die DFG unterstützt (Nachwuchsgruppe SFB 587, „Immunreaktionen der Lunge bei Infektion und Allergie“, sowie Graduiertenkolleg 1441, „Regulation der Allergischen Entzündung in Lunge und Haut“).

Die **Arbeitsgruppe von Michael Kabesch** ist an der **MHH in Hannover** angekommen und 2010 deutlich gewachsen. Publikationshighlights 2010 waren nochmals genomweite Assoziationsstudien, an denen sich das Labor im Rahmen von GABRIEL beteiligt hat. Hier konnte die Assoziation zwischen dem Chromosom-17q21-Lokus, der das ORMDL3-Gen trägt, und Asthma eindrücklich bestätigt werden [8, 9]. Eine gemeinsame Analyse von Kandidatengen und solchen Genen, die durch genomweite Assoziationsstudien identifiziert wurden, zeigt, dass auch genomweite Studien nicht alle Asthma-Kandidatengene ausreichend abdecken und es sich weiter lohnt, genauer hinzusehen [10]. Seit Sommer 2010 hat Michael Kabesch die Koordination des GABRIEL-PEDIATRIC-Projekts übernommen (ein Nachfolger des GABRIEL-Consortiums), in dem fast ein Dutzend Gruppen mit genomweiten Daten zum Asthma im Kindesalter zusammenarbeiten. In diesem Konsortium werden gerade die genetischen Determinanten für den Verlauf des kindlichen Asthma bronchiale untersucht. Von der European Respiratory Society hat Michael Kabesch 2010 den 1. Pediatric

Respiratory Research Award erhalten.

Ob epigenetische Veränderungen bei der Entstehung von Asthma relevant sein könnten, hat die **Arbeitsgruppe von Bianca Schaub (Dr. von Hainersches Kinderspital, LMU München)** an Foxp3, dem Transkriptionsfaktor von regulatorischen T-Zellen, untersucht. FOXP3-Demethylierung (ein Mechanismus der epigenetischen Kontrolle) korreliert sehr gut mit der Anzahl regulatorischer T-Zellen und der suppressiven Funktion dieser immunregulatorischen Zellen. Diese Studie stellt die Grundlage dar, diesen Marker in großen epidemiologischen Studien als quantitativen und indirekt auch als qualitativen Marker für regulatorische T-Zellen einzusetzen [11]. Im nächsten Schritt wird nun die Relevanz von FOXP3, aber auch anderen epigenetischen Markern in der Allergieentwicklung untersucht. Die Arbeiten von PD Dr. Schaub auf dem Gebiet der frühen Immunentwicklung in der Entstehung allergischer Erkrankungen wurden auf der Tagung der European Respiratory Society (ERS) im September 2010 in Barcelona mit dem 2. Pediatric Respiratory Research Award ausgezeichnet. (Zur Geburtskohorte in München hat Dr. Schaub im Jahr 2010 auch mit einer eigenen Tochter beigetragen. Herzlichen Glückwunsch!)

*Prof. Dr. med. Michael Kabesch
Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover
E-Mail: Kabesch.Michael@mh-hannover.de*

Literatur

- [1] Pynn CJ, Henderson NG, Clark H, Koster G, Bernhard W, Postle AD: The specificity and rate of human and mouse liver and plasma phosphatidylcholine synthesis analysed in vivo. *J Lipid Res* 2010.
- [2] Pynn CJ, Picardi MV, Nicholson T, Wistuba D, Poets CF, Schleicher E et al.: Myristate is selectively incorporated into surfactant and decreases dipalmitoylphosphatidylcholine without functional impairment. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010. 299: R1306–16.
- [3] Marcos V, Zhou Z, Yildirim AO, Bohla A, Hector A, Vitkov L et al.: CXCR2 mediates NADPH oxidase-independent neutrophil extracellular trap formation in cystic fibrosis airway inflammation. *Nat Med* 2010. 16: 1018–23.
- [4] Duerr J, Gruner M, Schubert SC, Haberkorn U, Bujard H, Mall MA: Use of a New Generation Reverse Tetracycline Transactivator System for Quantitative Control of Conditional Gene Expression in the Murine Lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010.
- [5] Anagnostopoulou P, Dai L, Schattner J, Hirtz S, Duerr J, Mall MA: Allergic airway inflammation induces a pro-secretory epithelial ion transport phenotype in mice. *Eur Respir J* 2010. 36: 1436–47.
- [6] Mall MA, Button B, Johannesson B, Zhou Z, Livraghi A, Caldwell RA et al.: Airway surface liquid volume regulation determines different airway phenotypes in liddle compared with betaENaC-overexpressing mice. *J Biol Chem* 2010. 285: 26945–55.
- [7] Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M, Kohlmueller D, Leible S, Feneberg R et al.: Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA testing in a Northern European population. *J Inherit Metab Dis* 2010. 33: S263–71.
- [8] Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S et al.: A large-scale, consortium-based genome-wide association study of asthma. *N Engl J Med* 2010. 363: 1211–21.
- [9] Sleiman PM, Flory J, Imielinski M, Bradford JP, Annaiah K, Willis-Owen SA et al.: Variants of DENND1B associated with asthma in children. *N Engl J Med* 2010. 362: 36–44.
- [10] Michel S, Liang L, Depner M, Klopp N, Ruether A, Kumar A et al.: Unifying candidate gene and GWAS Approaches in Asthma. *PLoS One* 2010. 5: e13894.
- [11] Liu J, Lluís A, Illi S, Layland L, Olek S, von Mutius E et al.: T regulatory cells in cord blood—FOXP3 demethylation as reliable quantitative marker. *PLoS One* 2010. 5: e13267.