

Link

www.wzw.tum.de/humanbiology
www.wzw.tum.de/bflm

100 μ m

Immunzellen und Nerven im Darm interagieren – das machen die TUM-Forscher sichtbar. Der Schnitt durch das Darmepithel verdeutlicht die enge Assoziation von Nerven (blau), Mastzellen (grün) und Lymphozyten (rot). Die direkte Nachbarschaft, die sich auch funktionell widerspiegelt, zeigt das Bild rechts, wo sich Mastzellen (grün) und Lymphozyten (rot) in unmittelbarer Nähe eines enterischen Ganglions (blau) befinden

Reizende Gesellen

Eiweißspaltende Enzyme aus der Darmflora tragen zur Entstehung chronischer Darm-entzündungen bei. Warum es dazu kommt, dass harmlose Proteasen körpereigene Zellen attackieren und welche molekularen Mechanismen dahinterstecken, soll ein EU-Forschungsprogramm aufklären, an dem auch TUM-Wissenschaftler beteiligt sind



Fotos: Kurt Bauer

Prof. Dirk Haller (links) und Prof. Michael Schemann wollen wissen, wie es zur Entstehung chronischer Darmentzündungen kommt. Sie nutzen die räumliche Nähe ihrer Arbeitsgruppen am Wissenschaftszentrum Weihenstephan für eine fruchtbare Zusammenarbeit

Kann das sein – „iPod“ ist das Thema der beiden Professoren? Beschäftigen sich die Naturwissenschaftler am Wissenschaftszentrum Weihenstephan insgeheim mit Unterhaltungselektronik? Die Sache klärt sich auf, als Michael Schemann buchstabiert: „IPODD. So heißt das Projekt, in dem Dirk Haller und ich zusammenarbeiten.“ Nicht um Musik und Videos geht es, sondern um „Intestinal Proteases: Opportunity for Drug Discovery“.

Bei dem im Juli 2008 gestarteten EU-Forschungsprogramm IPODD dreht sich alles um Proteasen, Enzyme, die Eiweißmoleküle spalten. Mit drei Millionen Euro für drei Jahre ausgestattet, wollen elf akademische und zwei kommerzielle Forschergruppen aus sieben Ländern die Rolle von Proteasen bei der Entstehung von Darmerkrankungen herausfinden. Im Vordergrund stehen die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED): Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Mehr als 3,5 Millionen Europäer und US-Amerikaner leiden daran, und mit zunehmender Industrialisierung holen die Schwellenländer kräftig auf. Bis heute sind die CED nicht heilbar. So soll IPODD nicht nur mehr Wissen über diese schwerwiegenden Krankheiten liefern, sondern möglichst auch Medikamente dagegen.

Die TUM ist mit zwei Wissenschaftlern und ihren Teams an IPODD beteiligt, eben Prof. Dirk Haller und Prof. Michael Schemann. Haller, Ordinarius für Biofunktionalität der Lebensmittel, befasst sich mit grundlegenden medizinischen Aspekten zur Rolle der Ernährung bei der Regulation chronischer Entzündungsprozesse im Darm. Schemann, der den Lehrstuhl für Humanbiologie leitet, hat sich der funktionellen Anatomie und Physiologie des Menschen verschrieben, Schwerpunkt Magen-Darm-Trakt. IPODD ist nicht das erste und ein-

zige Projekt, in dem die beiden eng zusammenarbeiten. Überhaupt versteht sich das Duo bestens, nicht nur beruflich „stimmt die Chemie“. Wenn Schemann sagt: „Die beiden Typen kommunizieren intensivst miteinander“, meint er damit aber die forschungsmäßig jeweils bevorzugten Zelltypen: Epithelzellen bei Haller, Nervenzellen bei Schemann. Diese beiden Arten von Darmzellen sind die Fixpunkte, anhand derer die Weihenstephaner Forscher das ganze Spektrum der (entzündlichen) Darmkrankheiten, vom Reizdarm bis CED, analysieren, wobei sich CED und funktionelle Darmerkrankungen nicht streng trennen lassen, sondern vermutlich ein abgestuftes Kontinuum bilden, wie Haller erläutert. In erster Linie handelt es sich um Grundlagenforschung, doch durch die Kooperation mit klinischen Gruppen ist auch der Bezug zur medizinischen Praxis gegeben.

Angriffe auf gesundes Gewebe

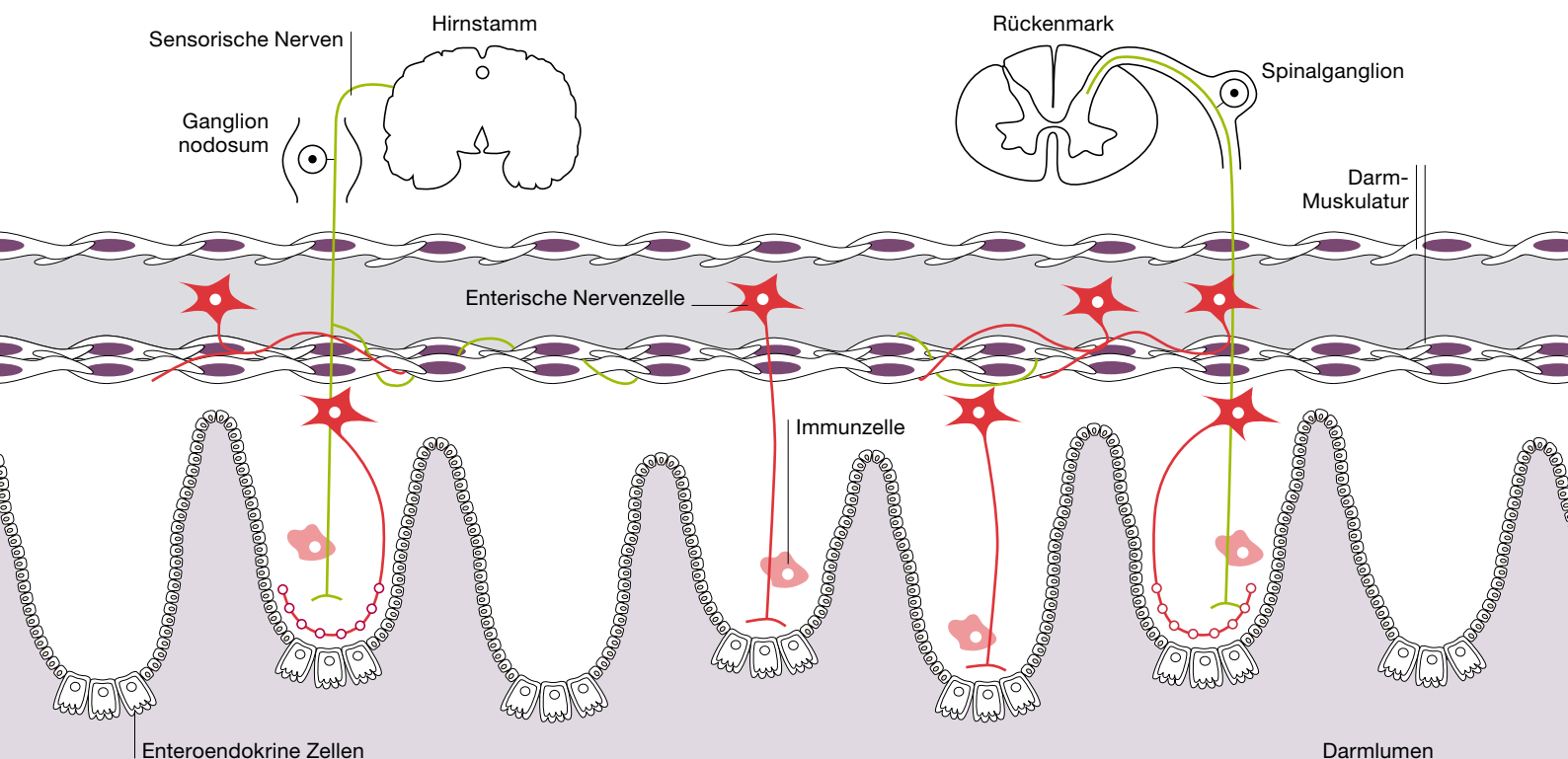
Proteasen und ihre Rolle bei Schmerz und Entzündung zu erforschen, liegt heute im Trend. Dabei geht es aber meist um Phänomene in Zusammenhang mit arthritischen Erkrankungen. Der Ansatz, die Wirkung von Proteasen auf den Darm und seine Funktion zu untersuchen, ist neu. Ebenso ungewöhnlich ist, dass es bei IPODD nicht um Proteasen geht, die von klassischen Infektionserregern gebildet werden, sondern um solche aus körpereigenen Bakterien. Der menschliche Darm beherbergt eine große Anzahl an Mikroorganismen, die funktionell wichtig sind und normalerweise keine Beschwerden verursachen. Bei CED aber beginnen die bakteriellen Proteasen aus unbekanntem Grund, die Darmschleimhaut anzugreifen. „Die Epithelschicht der Schleimhaut dichtet den Darm so gut ab, dass im Normalfall nichts ins Blut gelangt, das nicht dorthin gelangen soll“, sagt Haller. „Zwischen den Epithelzellen gibt

es aber Kontaktpunkte aus Protein, die von Proteasen angegriffen werden können. Wenn das geschieht, wird die Epithelbarriere durchlässig. Wie es dazu kommt und wie diese Prozesse im Kontext mit einer gewissen Prädisposition stehen, möchten wir herausfinden.“

Darm-Proteasen dienen einerseits der Verdauung, wirken andererseits aber auch spezifisch auf Signalkaskaden in den Darmzellen. Die sehr fein abgestimmten Signalkaskaden sorgen für den geordneten Ablauf der Zellfunktionen. Zu viele oder zu wenige, falsche oder jedenfalls in dem Moment unpassende Proteasen verschieben das ausbalancierte Gefüge und greifen in Funktionen ein – was gut oder schlecht sein kann. Das hängt davon ab, welche Proteasen aus welchen Zellen zu einem bestimmten Zeitpunkt in wie hoher Konzentration vorliegen. Nicht zu vergessen, es finden sich im Darm auch von Immunzellen gebildete Proteasen – im-

merhin ist die Darmwand Sitz des größten Immunsystems des Körpers. Die jeweilige Zusammensetzung des Protease-Cocktails bestimmt, ob die Enzyme nützen oder schaden – etwa anfangen, körpereigene Zellen anzugreifen und Entzündungen zu provozieren.

Die zentrale Frage von IPODD lautet: Was liegt dem negativen Effekt von Proteasen zugrunde, wie kommt es zu unheilvollen Entgleisungen? Um Antworten zu finden, müssen die Arbeitsgruppen zunächst einzelne Aspekte isoliert betrachten und auf molekularer Ebene klären. Dann können sie ihre Befunde ins Gesamtsystem zurückführen und testen, ob diese sich dort wiedererkennen lassen. Wesentliche Strukturen in den Versuchen sind die PAR: Protease Activated Receptors. Solche ganz besonders aufgebauten Protease-Rezeptoren besitzen viele Zellen, so auch Nervenzellen. An die PAR binden Liganden, die von einer Schutzschicht um- ▶



Grafik: eciundsepp

Aufbau der Darmwand mit den Zellen, deren Funktion durch Proteasen beeinflusst werden: Proteasen werden entweder im Darmlumen von der Mikroflora gebildet oder von Immunzellen synthetisiert und freigesetzt. Spezifische Protease-Rezeptoren werden in Muskel- und Epithelzellen, insbesondere aber in enterischen Nervenzellen und sensorischen autonomen Nerven exprimiert. Hierbei ist die Nähe der Immunzellen zu Nerven funktionell relevant und Basis für die sogenannten Neuro-Immun-Interaktionen im Darm

Adipositas – eine Funktionsstörung des Darms?

Einen ganz neuen Aspekt von Darmerkrankungen verfolgen die Arbeitsgruppen Haller/Schemann in einem Projekt gemeinsam mit französischen Kollegen: Es gibt in der Literatur Hinweise darauf, dass Adipositas eine eigenständige Erkrankung des Darms sein könnte, vermutlich eine Funktionsstörung. Als Ursache wird an erster Stelle eine Änderung in der Permeabilität der Schleimhaut in Betracht gezogen. Interessant ist, dass sich solche Störungen feststellen lassen, lange bevor die mit einer fettreichen Diät gefütterten Versuchstiere (Mäuse) an Gewicht zulegen. Spä-

ter entwickeln die Nager ähnliche Symptome wie übergewichtige Menschen – metabolisches Syndrom, Insulinresistenz, Diabetes. Könnten Wissenschaftler die ersten Anzeichen einer solchen Störung frühzeitig erkennen und behandeln, wäre der medizinische Nutzen außerordentlich. Aus drei Richtungen nehmen die Projektpartner das Problem in die Zange: An der TUM stehen Entzündungs- und immunologische Parameter sowie neuronale Reaktionen im Vordergrund, das französische Team analysiert Veränderungen der Darmfunktionen.

hüllt sind. Die Rezeptoren zerstören diese Schicht, erst dann kann der Ligand ankoppeln. Resultat ist ein besonders fest miteinander verbundener Komplex, in dem der Rezeptor seinen Liganden regelrecht mitschleppt.

Die Protagonisten der beiden TUM-Teams, Epithelzellen aus der Darmschleimhaut und Nervenzellen aus der Darmwand, arbeiten ebenso eng zusammen wie die Forscher. Die Art des Transmitters, den die Neuronen nach Stimulation durch Proteasen ausschütten, beeinflusst die Funktion des Epithels, dessen molekulare Reaktion wiederum auf die Nervenzellen zurückwirkt. In dieses Wechselspiel greifen die Wissenschaftler gezielt ein und lernen so immer genauer, welche Mechanismen ihm zugrunde liegen. Wenn die Zugabe einer bakteriellen Protease die Nervenzellen beispielsweise veranlasst, vermehrt einen bestimmten Transmitter zu produzieren und die Epithelzellen daraufhin gehemmt oder aber angeregt werden, gibt das Einblick in die Kommunikationsprozesse zwischen den Zellen.

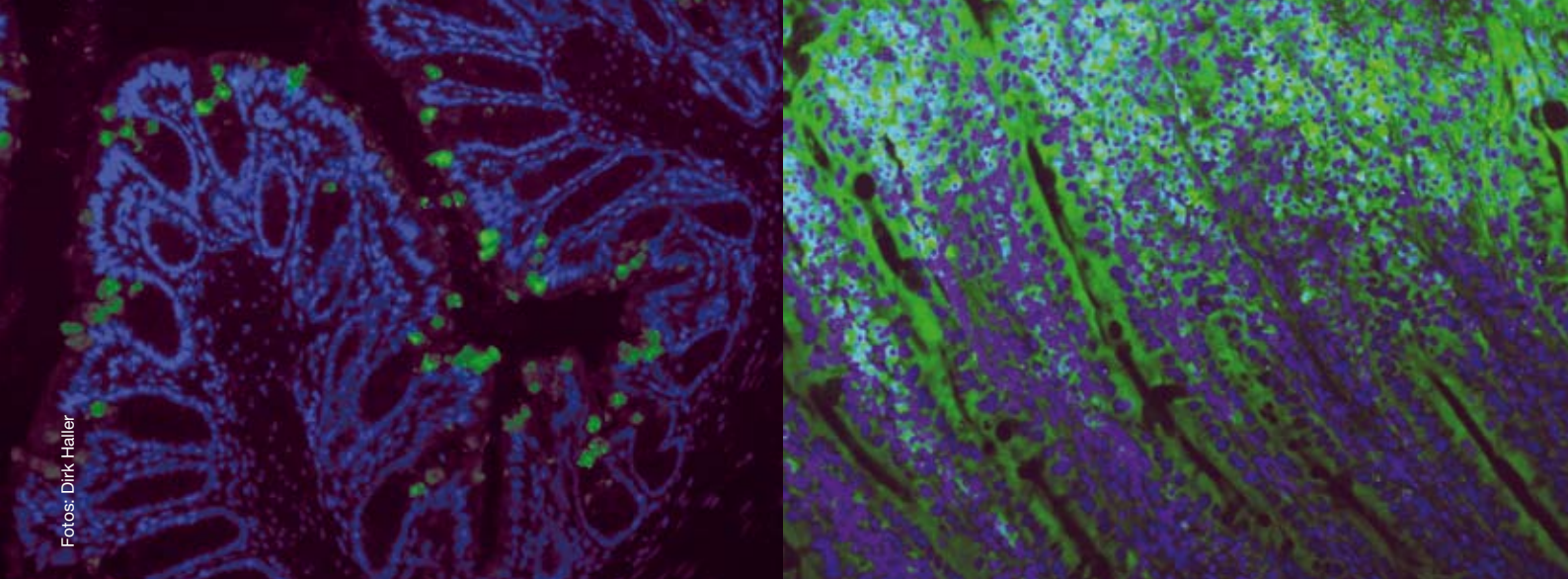
Nervenzellen sehen alles

Gearbeitet wird vor allem an Därmen von Mäusen und mit menschlichem Darmgewebe. Die AG Schemann ist zwar auch an der empfindlichen Darmschleimhaut, mehr aber am robusteren, tiefer liegenden Nervengewebe interessiert. „Da die Nervenzellen irgendwann alles sehen, was aus dem Darmlumen ins Blut aufgenommen wird, ist es sinnvoll, zu testen, wie die Neuronen nach Zugabe von Proteasen ihre Aktivität ändern“, erklärt Schemann. „Aufschlussreich ist auch, den Überstand von zuvor in Lösung inkubiertem Biopsie-Material auf die Zellen zu geben. Unsere Erkenntnisse versuchen wir dann mit dem jeweiligen Krankheitsbild zu korrelieren.“ Ist das Schleimhautepithel entfernt, bleibt die übrige Darmwand für mehrere Tage vital. „Wenn wir intakten

humanen Darm bekommen, nutzen wir aber natürlich auch die Schleimhaut für Versuche“, schildert Schemann die Arbeitsweise seiner Gruppe und nutzt die Gelegenheit für ein Lob auf die engagierten Mitarbeiter. Denn weil Darmoperationen oft nachmittags vorgenommen werden und die Schleimhautzellen rasch zugrunde gehen, ist dann häufig eine Nachtschicht angesagt. Das Material stammt aus dem TUM-Klinikum rechts der Isar und dem Freisinger Krankenhaus, einem Lehrkrankenhaus der TU München. Bei Darmoperationen, etwa der Entfernung von Tumoren oder Polypen, entnehmen die Ärzte immer zur Sicherheit auch einige Zentimeter gesunden Darms. Damit diese Darmstücke so schnell wie möglich ans WZW gelangen, holen die Wissenschaftler sie im nahe gelegenen Freisinger Krankenhaus selbst ab, das Rechts der Isar schickt sie per Taxi. Die Darmgewebe-Bank des WZW ist heute die umfangreichste der Welt. Deshalb wird auch an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung so vielfältig an menschlichem Darm geforscht wie an der TUM.

5.000 Signale werden parallel erfasst

Ob Menschen- oder Mäusedarm: Ist die Schleimhaut entfernt, ist das darunter liegende Nervengeflecht gut zugänglich. Die Testsubstanzen werden direkt auf die mit einem Fluoreszenzfarbstoff gefärbten Neuronen gegeben. Das geschieht unter einem Hochleistungs-Mikroskop, an das eine superschnelle Kamera angekoppelt ist, ausgestattet mit Mikrochips, die Signale von 5.000 einzelnen Nervenzellen gleichzeitig registrieren und die Daten an einen Rechner schicken. Am Bildschirm lässt sich direkt verfolgen, wie die Nervenzellen ihre als Peaks erkennbaren Aktionspotenziale in Frequenz und Amplitude verändern. Bei der späteren Auswertung blitzen dank der Fluoreszenzfärbung auf dem Monitor bunte Flecken auf: Hellere Farbe bedeutet höhere Akti-



200fach vergrößerter Schnitt durch das Kolon einer Maus. Das Gewebe auf dem Bild links ist nicht entzündet, im Gegensatz zu dem mit *Enterococcus faecalis monoassoziertem* stark entzündeten Kolon (rechts). Die Immunofluoreszenzfärbung macht das glucoseregulierte Protein 78 (Grp78, grün) sichtbar. Die Zellkerne sind blau gegengefärbt

vität. So hoffen die Forscher, eine Korrelation zwischen veränderter Neuronen-Aktivität und den Symptomen einer CED aufzudecken.

In der AG Haller, wo die Epithelzellen der sensiblen Schleimhaut im Mittelpunkt stehen, ist bei der Präparation Eile geboten. In Kultur halten lassen sich zumindest Primärzellen nicht; sie müssen schnell für die Tests vorbereitet und verwendet werden. Längerfristige Untersuchungen führen die Wissenschaftler an immortalisierten Epithelzellen durch, die sie von einem Kooperationspartner erhalten. Hightech hilft dabei, die gewünschten Zellen rasch zu finden und zu isolieren: Unter dem Laserdissektionsmikroskop lassen sich in der Schleimhaut interessante Bereiche markieren und mit einem Klick ausschneiden. Ein Durchflusszytometer sortiert das Gemisch unterschiedlicher Zellen anhand optischer Signale in einem Laserstrahl. Wurde zuvor eine Fluoreszenzfarbe zugegeben, die an Epithelzellen bindet, lassen sich diese gezielt aus dem Gemenge herausfischen.

Die Frage ist nun, ob eine Protease, die an Nervenzellen einen Effekt hatte, auch in Epithelzellen eine Reaktion bewirkt, etwa die Art und Menge zellulärer Inhaltsstoffe verändert. Lässt sich ein Phänomen auf diese Weise erklären, versuchen wiederum die Humanbiologen, dieses mit pharmakologischen Mitteln zu fördern oder zu unterdrücken. So spielen sich die beiden Arbeitsgruppen ständig zu, und auch zwischen den herangezogenen Testsystemen gibt es ein dauerndes Hin und Her. „Wir finden eine Wirkung im Tier oder im Menschen, suchen dann auf zellulärer Ebene und schließlich im molekularen Bereich nach der Erklärung“, berichtet Haller. „Lässt sich ein molekularer Mechanismus finden, der vermutlich verantwortlich ist, geht es wieder zurück in die Zelle und dann zu Maus oder Mensch. Das wieder-

holt sich immer wieder, und nach und nach werden immer mehr Details geklärt, bis wir hoffentlich irgendwann wissen, warum es zu der bestimmten Wirkung gekommen ist und was man dagegen tun kann – oder auch, wie man einen positiven Effekt fördern kann.“

Erste Ergebnisse sind vielversprechend. So konnten die Forscher bereits einen Übeltäter überführen: eine Gelatinase. Im Mäusedarm, so stellten sie fest, wird die Produktion dieser Gelatinase bei Darmentzündungen angekurbelt, wie Haller schildert: „Da Gelatinasen auf den Abbau bindegewebiger Substanzen spezialisiert sind, können sie die Verbindungen zwischen den Epithelzellen anknabbern und durchlässiger machen, also die Barrierefunktion der Schleimhaut schwächen. Wir haben diese Gelatinase gezielt in Bakterien ausgeschaltet – dann fiel die entzündliche Reaktion wesentlich moderater aus. Inzwischen konnten wir die Gelatinase und ihre negative Wirkung auch beim Menschen nachweisen.“

Schon bald wollen Michael Schemann und Dirk Haller Nerven- und Epithelzellen in gemeinsamer Kultur wachsen lassen. Dann können die Zellen wie in vivo direkt miteinander kommunizieren, und die Forschung ist wieder einen Schritt näher an den physiologischen Gegebenheiten. Die räumliche Nähe auf dem Weihenstephaner Campus bietet für solche Studien beste Voraussetzungen. Die beiden Teams schöpfen ihre Möglichkeiten aus und produzieren Spitzenforschung – was sich nicht zuletzt auf die Lehre auswirkt. Unisono betonen beide Professoren: „Von den exzellenten Forschungsbedingungen profitieren auch die Studierenden. Sie haben Zugang zu neuesten Methoden und Hightechgeräten. Das garantiert eine super Ausbildung.“

Sibylle Kettmeil