

Projekttitle:**Vitamin D zur Behandlung entzündlicher Lungenerkrankungen****Projektnummer: S04/11**

Beteiligte Wissenschaftler: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat Robert Bals,
Dr. rer. physiol. Christian Herr

Laufzeit: 01.06.2011 – 31.01.2014

Datum 02.05.2014

Projektabschluss: 31.01.2014

Fördervolumen: 194 000 €

Ziel des Projekts:

Vitamin D3 (VitD3) spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation des Calcium-Phosphat-Stoffwechsels. Eine ausreichende VitD3-Versorgung ist damit für die Mineralisierung der Knochen unerlässlich. Daneben spielt VitD3 eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr durch das angeborene und adaptive Immunsystem.

Das Ziel des Projektes ist zu zeigen dass VitD3 vor bakteriellen Infektionen der Lunge schützt. Wir werden dies mit Bakterien zeigen, die typischerweise bei Infektionen der Lunge von Mukoviszidose-Patienten auftreten. Das Projekt gliedert sich in 3 Abschnitte, in denen folgende Ziele verfolgt werden:

- 1. Der Einfluss von VitD3 auf Infektionen der Lunge.** Hier soll untersucht werden, ob die VitD3-Konzentration im Serum einen Einfluss auf die Infektion und Entzündung der Lunge hat. Dazu werden präklinische Modelle eingesetzt, bei denen mit VitD3-depletierter Diät ein VitD3-Mangelzustand erzeugt wird. Anschließend werden die Infektion und die Entzündung der Lunge gemessen.
- 2. Die Entwicklung einer inhalativen VitD3 Präparation zur Behandlung einer Lungeninfektion.** VitD3 wird dazu in eine aerosolisierbare Form gebracht und untersucht, ob eine VitD3-Inhalation die Lunge vor Infektionen und Entzündungen schützt.
- 3. Untersuchung der Einflusses von VitD3 auf zelluläre Signalwege von Makrophagen, Neutrophilen und Epithelzellen der Lunge.** Dazu wird in Zellkultur-Experimenten untersucht, ob VitD3 die Entzündung und Immunabwehr verschiedener Zelltypen beeinflusst.

Die Ergebnisse des Projektes sollen zeigen, ob durch die Behandlung mit VitD3 eine Abschwächung der Entzündung auftritt und ob das Immunsystem die Infektion der Lunge effizienter bekämpfen kann, wenn VitD3 verabreicht wird. Da CF-Patienten eine verminderte Resorption von VitD3 über die Nahrung zeigen, werden wir eine inhalative Applikation von VitD3 entwickeln. Die Ergebnisse dieses Projektes könnten direkt in eine klinische Studie münden, da VitD3 bereits weit verbreitet angewendet wird. Die klinische Anwendung ist nicht Teil dieses Projektes und wird getrennt behandelt.

Ergebnisse:

Die Expression der anti-mikrobiellen Peptide LL-37/hCAP-18 und β -Defensin-2 wird bei einer Infektion direkt durch VitD3 begünstigt. Wir konnten zeigen, dass Atemwegsepithelzellen durch VitD3 nach einer Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa*

(PAO) eine geringere Entzündungsreaktion und eine erhöhte anti-mikrobielle Aktivität zeigen. VitD3 wurde dafür in Form von 25-hydroxy-vitamin-D3 (25(OH)D3) zu den Zellen gegeben und anschließend mit lebenden Pseudomonaden infiziert. Da 25(OH)D3 nicht wasserlöslich ist, wurde 25(OH)D3 entweder in Ethanol gelöst oder in Liposomen verpackt verwendet. Die Liposomen wurden in der Arbeitsgruppe des Kooperationspartners Prof. C. M. Lehr vom Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS) entwickelt und charakterisiert. Die *in vitro* Versuche haben gezeigt, dass 25(OH)D3 in Liposomen von Atemwegsepithelzellen zu der biologisch aktiven Form verstoffwechselt werden kann und sich positiv auf die Entzündungs- und Immunantwort auswirkt.

Der Einfluss von VitD3 auf die Infektion und Entzündung der Lunge wurde durch 2 verschiedene Versuchsansätze *in vivo* an Mausmodellen untersucht. Zuerst wurde untersucht, ob bei VitD-Mangel bei den Mäusen eine stärkere Infektion und Entzündung der Lunge auftritt. Dazu wurden Mäuse mit Futter ohne VitD Zusatz gefüttert, wodurch der Serumspiegel von 25(OH)D3 um ca. 80% gesenkt werden konnte. In einem anderen Versuchsansatz wurde der Einfluss von inhalativ verabreichtem 25(OH)D3 auf die Infektion und Entzündung der Lunge untersucht.

Obwohl wir in einigen Experimenten einen positiven Einfluss von VitD3 auf die Immunantwort und die Infektion der Lunge beobachten konnten, war bei der Mehrzahl der Experimente kein Einfluss feststellbar. Wir haben dafür sowohl unterschiedliche Zeitpunkte, Bakterienstämme und Formen von VitD3 verwendet. Die Liposomen mit 25(OH)D3 wurden in der verwendeten Konzentration und Behandlungsdauer gut toleriert. In den verwendeten Maus-Modellen („*in-vivo*“) zeigt VitD-Mangel keine schwere Anfälligkeit gegenüber Infektionen. Demnach konnten die positiven Ergebnisse aus den Zellkulturversuchen („*in-vitro*“) nicht „*in-vivo*“ bestätigt werden. Warum das so ist, soll Gegenstand weiterer präklinischer Forschung werden und zukünftig soll die Regulation des VitD3 Haushalts genauer untersucht werden.