

# Aktuell durch Mukoviszidose e.V. und Mukoviszidose-Institut gGmbH (MI) geförderte Forschungsprojekte

**Stand 10. Mai 2019**



**Weitere Information erhalten Sie bei:**

*Dr. Sylvia Hafkemeyer*

*Tel.: 0228 9878042;*

*Email: [shafkemeyer@muko.info](mailto:shafkemeyer@muko.info)*

## Übersicht - Projekte

<b>Projektförderung</b>	3
<i>Untersuchung der Funktion des Chloridkanals TMEM16A in der Mukoviszidose-Lunge (1807)</i>	4
<i>Untersuchung zur Entstehung von Resistenzmechanismen von Staphylococcus aureus gegen Antibiotika (1806)</i>	6
<i>Untersuchungen zur Beeinflussung von Immunreaktionen und Infektionen mit Pseudomonas aeruginosa durch das Atemwegsmikrobiom bei CF-Patienten (1805)</i>	8
<i>Das Mikrobiom des Bluts als Biomarker der Lungenerkrankung bei Mukoviszidose (1804)</i>	10
<i>Allergische Reaktionen auf Medikamente - Entwicklung von Strategien zum Umgang mit Antibiotika Allergien in Diagnostik und Therapie (1705)</i>	12
<i>Signalübermittlung in Abwehrzellen der Lunge von CF-Patienten (1604)</i>	14
<b>Nachwuchsförderung</b>	16
<b>Kleinprojekte</b>	17
<i>Identifikation von extrazellulären Antigenen und Virulenzfaktoren von Pseudomonas aeruginosa unter anaeroben Bedingungen (1904)</i>	18
<i>Zelltod durch Ferroptose bei Mukoviszidose (1903)</i>	20
<i>Entwicklung eines Tests zur Diagnostik von Infektionen mit Mycobacterium abscessus (1902)</i>	21
<i>Erhebung zur aktuellen Praxis physiotherapeutischer Maßnahmen bei Kindern und Jugendlichen (Physiotherapy for Children and Adolescents with Cystic Fibrosis - Getting an Overview on Current Practice) (1802)</i>	22
<i>Untersuchungen zur Regulation der Entzündung bei Mukoviszidose auf epigenetischer Ebene (Epigenetic Regulation of Resolution of Inflammation in Cystic Fibrosis) (1801)</i>	23
<i>Untersuchung zu dem Zusammenhang zwischen der familiären Situation und dem Krankheitsverlauf bei Mukoviszidose (1703)</i>	25

## Projektförderung

Der Mukoviszidose e.V. fördert ausschließlich Forschungsprojekte, deren Ergebnisse entweder **direkten Patientennutzen („Klinische Projekte“)** oder neues **krankheitsbezogenes Wissen („Forschungsprojekte zur Schaffung von krankheitsspezifischem Wissen“)** versprechen.

### Klinische Projekte:

Unter „Klinische Projekte“ werden alle Vorhaben verstanden, in denen im Rahmen einer klinischen Studie eine **neue Therapie- oder Diagnose Methode getestet** wird und **aktiv Patienten für diese Untersuchung rekrutiert** werden. Gefördert werden monozentrische, multizentrische sowie nationale und internationale klinische Studien im Bereich Mukoviszidose.

### Forschungsprojekte zur Schaffung von krankheitsspezifischem Wissen:

Gefördert werden Forschungsverbände und Einzelanträge, die zum Ziel haben, **neues krankheitsbezogenes Wissen auf dem Gebiet der Mukoviszidose** zu generieren. Eine klinische Anwendung muss nicht direkt aus dem vorgeschlagenen Projekt resultieren, muss aber langfristig denkbar sein. Die Ergebnisse der Forschungsprojekte sollen Voraussetzungen für neue Therapien und verbesserte Diagnostik schaffen. Vorhaben, die auf klinisches Probenmaterial zurückgreifen ohne projektbezogene Patientenrekrutierung oder auch epidemiologische Untersuchungen fallen ebenfalls unter diese Rubrik.

## Untersuchung der Funktion des Chloridkanals TMEM16A in der Mukoviszidose-Lunge (1807)

<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Ulrich Martin, Medizinische Hochschule Hannover
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dr. Luis J. V. Galiotta, Dr. Paolo Scudieri, Dr. Ilaria Musante, Telthon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (Italy)
<b>Laufzeit:</b>	36 Monate; 01. Dezember 2018 – 31. November 2021
<b>Fördervolumen:</b>	<b>200.000 €</b>

**Ziele:** Die Funktion des alternativen Chloridkanals TMEM16A (Anoctamin-1) ist im Zusammenhang mit der Funktion des CFTR-Kanals bei CF nicht geklärt. Es wäre denkbar, dass eine gezielte Stimulation des TMEM16A die defekte CFTR-Funktion ausgleicht und damit den gestörten Salz-Wasserhaushalt wiederherstellen kann. Es gibt jedoch auch Hinweise, dass TMEM16A einen Einfluss auf die Muzinsekretion im Schleim hat und in diesem Fall wäre eine Aktivierung von TMEM16A als CF-Therapie nicht sinnvoll, hingegen eine Hemmung von TMEM16A denkbar. Ziel des Projektes „EFFECT“ ist es, die Rolle von TMEM16A aufzuklären und aus diesen Erkenntnissen möglicherweise einen therapeutischen Ansatz für CF-Patienten zu entwickeln, der unabhängig von der CFTR-Mutation wirkt.

**Methodik:** Durch einen Prozess, der Reprogrammierung genannt wird, können ausgereifte Zellen (z. B. aus Blutproben oder Hautzellen) in pluripotente Stammzellen umgewandelt werden (sogenannte induzierte pluripotente Stammzellen; iPS-Zellen). Diese Zellen können im Labor unbegrenzt vermehrt werden. Man könnte diese zurückprogrammierten Zellen auch als „Alleskönner-Zellen“ bezeichnen, denn aus iPS-Zellen können verschiedene Zelltypen wie Herz- oder Leberzellen, inzwischen aber auch Lungenzellen, hergestellt werden.

Im ersten Schritt sollen iPS-Zellen hergestellt werden, die genetisch so verändert sind, dass sie entweder keinen funktionierenden TMEM16A-Kanal haben oder einen TMEM16A-Kanal, der gezielt an- und ausgeschaltet werden kann. Im nächsten Schritt sollen aus diesen Zellen ausgereifte Lungen-Epithelzellen generiert werden, die im dritten Schritt hinsichtlich ihrer Fähigkeiten zum Chlorid-Transport und der Schleimproduktion untersucht werden sollen. Dabei werden vergleichende Untersuchungen von Zellen mit und ohne den TMEM16A Transporter im Zusammenspiel mit dem defekten CFTR-Kanal durchgeführt, die Informationen zur Rolle von TMEM16A geben sollen. Um die Rolle von TMEM16A umfassend zu charakterisieren, werden

Projektförderung



verschiedene Analysen an den Zellen durchgeführt, die alle in den Arbeitsgruppen gut etabliert sind (u. a. Chloridtransport und Muzinsekretion).

**Ausblick:** Wenn die Funktion des TMEM16A im Zusammenhang mit dem CFTR-Kanal einen Unterschied im Salz-Wasserhaushalt bei CF-Patienten verursacht, könnte ein therapeutischer Ansatz (z.B. durch Stimulation oder Hemmung des TMEM16A) entwickelt werden. Dieser wäre unabhängig von der Art der CFTR-Mutation.

## Untersuchung zur Entstehung von Resistenzmechanismen von *Staphylococcus aureus* gegen Antibiotika (1806)

<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Barbara Kahl, Universitätsklinik Münster
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dr. Angelika Dübbers, Universitätsklinik Münster, Dr. Peter Küster, Clemenshospital
<b>Laufzeit:</b>	24 Monate; 01. Oktober 2018 – 30. September 2020
<b>Fördervolumen:</b>	<b>140.000 €</b>

**Ziele:** *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ist einer der meist isolierten Erreger aus den Atemwegen von CF-Patienten. Der Erreger kann über lange Zeit in den Atemwegen der Patienten überleben. In den letzten Jahren wurden zunehmend Antibiotika-resistente Bakterien aus den Atemwegen von CF-Patienten isoliert. Das Ziel des Projekts ist, die Mechanismen, die den Antibiotikaresistenzen der *S. aureus*-Isolate zu Grunde liegen, zu untersuchen. Außerdem soll ein möglicher Zusammenhang des Auftretens von „Resistenztypen“ mit der antibiotischen Therapie, der Lungenfunktion und der Ko-Infektion mit anderen wichtigen CF-relevanten Erregern untersucht werden. Weiterhin soll die Virulenz der verschiedenen Resistenztypen, ihre Fitness und die Fähigkeit, von respiratorischen Epithelzellen aufgenommen zu werden und eine Immunantwort in ihnen hervorzurufen, untersucht werden.

**Methodik:** Es kann auf Probenmaterial aus der Universitätsklinik und dem Clemenshospital in Münster zurückgegriffen werden. Dort werden *S. aureus*-Isolate von CF-Patienten bereits seit 1994 bzw. 2001 archiviert, so dass bei nachgewiesener Antibiotikaresistenz das Probenmaterial zur Untersuchung der Resistenzentwicklung bis zum ersten Isolat der *S. aureus*-Infektion der Patienten zurückverfolgt werden kann. In einer Pilotstudie untersuchte Prof. Kahl ein Jahr lang Sputumproben zu verschiedenen Zeitpunkten. Dabei konnten bei vielen der 14 Patienten Veränderungen hinsichtlich der Antibiotika-Resistenztypen festgestellt werden. Durch Korrelation klinischer Daten (z. B. antibiotischen Therapien, Co-Infektionen mit anderen Bakterien) konnten erste Hinweise auf mögliche Resistenzmechanismen identifiziert werden. Eine Überprüfung dieser Hinweise unter Verwendung der in Münster verfügbaren langjährigen CF-Probensammlung soll in dem Projekt durchgeführt werden. Dabei werden vier Fragestellungen bearbeitet:

**Arbeitspaket 1:** Mechanismus der Resistenz-Entwicklung

In den *S. aureus*-Isolaten wird die Veränderung (Mutation) von Resistenzgenen gegenüber Antibiotika (Penicillin, Oxacillin, Erythromycin, Clindamycin, Levofloxacin, Gentamicin, Trimethoprim-Sulfamethoxazol, Rifampicin) untersucht, indem die Gene und teilweise das gesamte Bakteriengenom sequenziert werden.

**Arbeitspaket 2:** Entwickeln sich über die Zeit verschiedene Resistenztypen in einem Patienten?

Bei Isolaten der 14 vor-untersuchten Patienten wird analysiert, ob seit Auftreten der ersten Resistenz unterschiedliche Resistenzgene bzw. Mutationen für die Resistenz verantwortlich sind.

**Arbeitspaket 3:** Unterscheiden sich die Isolate mit unterschiedlichen Resistenztypen hinsichtlich ihrer Virulenz oder Fitness (Überlebensfähigkeit)?

Die *S. aureus*-Isolate werden hinsichtlich ihrer Zelltoxizität und Biofilm-Bildung getestet. Außerdem wird in Konkurrenzexperimenten untersucht, welches Isolat am besten überlebt.

**Arbeitspaket 4:** Ist die Resistenz mit der Antibiotika-Therapie, der Lungenfunktion und der Ko-Infektion mit anderen Keimen assoziiert?

Aus klinischen Daten zur Antibiotika-Therapie, der Lungenfunktion (Spirometrie) und Co-Infektion mit anderen CF-Keimen (*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, *Non-Tuberculous Mycobacteria*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*) werden Untersuchungen zur Korrelation der Entwicklung von Resistenztypen bei *S. aureus* durchgeführt.

**Ausblick:** Wenn die Resistenzentstehung von *S. aureus* und ihre Mechanismen besser verstanden werden, kann die Antibiotika-Therapie für bestehende und wiederkehrende Infektionen mit *S. aureus* zielgerichteter eingesetzt werden.



## Untersuchungen zur Beeinflussung von Immunreaktionen und Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* durch das Atemwegsmikrobiom bei CF-Patienten (1805)

<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Alexander H. Dalpke, Universitätsklinik Dresden
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dr. Sébastien Boutin, Universitätsklinik Heidelberg, PD Dr. Olaf Sommerburg, Universitätsklinik Heidelberg
<b>Laufzeit:</b>	24 Monate; 01. März 2019 – 28. Februar 2021
<b>Fördervolumen:</b>	<b>100.000 €</b>

**Ziele:** In den letzten Jahren konnte mit modernen Sequenziermethoden gezeigt werden, dass neben den bei CF typischen Keimen (z.B. *Pseudomonas aeruginosa*) auch eine Vielzahl von anderen aeroben und anaeroben Bakterien in den tiefen Atemwegen zu finden sind. Darunter finden sich als Bestandteil des sog. Lungen-Mikrobioms auch Bakterien, die üblicherweise bei Gesunden im Nasen-Rachen-Raum vorkommen und denen daher bislang keine krankheitsverursachenden Wirkungen zugeschrieben wurde. Diese Bakterien werden auch als Kommensalen bezeichnet. Bislang ist nicht klar, ob und wie diese kommensalen Bakterien das Krankheitsgeschehen bei CF beeinflussen oder ob sie sogar einen schützenden Effekt vor anderen Keimen haben. In dem Projekt soll geklärt werden, welchen Einfluss die kommensalen Bakterien *Neisseria*, *Veillonella*, *Prevotella* und *Streptococcus* auf das Immunsystem und das Wachstum von *Pseudomonas aeruginosa* haben.

### **Methodik:**

**Arbeitspaket 1:** In einem ersten Schritt sollen verschiedene kommensale Bakterien im Labor in einem Zellkulturmodell (in vitro) dahingehend getestet werden, ob sie eine Entzündungsreaktion durch klassische CF-Krankheitserreger (hier *Pseudomonas aeruginosa*) abschwächen können. Für diese Untersuchungen werden verschiedene Co-Infektionen im Zellkulturmodell nachgestellt und anschließend Entzündungsmarker und krankmachende bakterielle Substanzen (Virulenzfaktoren) gemessen.

**Arbeitspaket 2:** In einem zweiten Schritt soll im Sputum von CF-Patienten (ex-vivo) untersucht werden, welche Bakterien in den Atemwegen vorkommen und wie sich deren Anwesenheit zur Ausprägung der CF-Erkrankung verhält. Für die Untersuchungen werden zusätzlich zur Routinediagnostik moderne Kultur-unabhängige Verfahren (Sequenzierung der bakteriellen DNS) zur Identifikation der Bakterien verwendet und gleichzeitig verschiedene Entzündungsparameter in den vorhandenen Proben im Labor gemessen. Die Ergebnisse werden statistisch zu klinischen Daten in Bezug gesetzt. Ziel ist die Identifikation solcher kommensaler Bakterien, die mit einer geringeren Entzündungsaktivität einhergehen.

**Arbeitspaket 3:** Im dritten Schritt soll ein probiotischer Therapieansatz getestet werden, indem untersucht wird, ob die Infektion mit dem CF-Keim *Pseudomonas aeruginosa*



Projektförderung



verhindert oder verändert werden kann, wenn gleichzeitig kommensale Bakterien gegeben werden.

**Ausblick:** Die Ergebnisse sollen dazu beitragen, zu verstehen ob und wie kommensale Bakterien am Infektionsgeschehen in den Atemwegen von CF-Patienten beteiligt sind. Darauf aufbauend könnte es möglich sein, durch Gabe „harmloser“, kommensaler Bakterien Infektionen mit gefährlichen Bakterien zu beeinflussen (probiotischer Therapieansatz). Andererseits könnte auch deutlich werden, wie die Auswahl von Antibiotika gezielter schädigende Bakterien angreifen und schützende Bakterien aussparen kann.

## Das Mikrobiom des Bluts als Biomarker der Lungenerkrankung bei Mukoviszidose (1804)

<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Dr. Robert Bals, Universitätsklinik Saarland, Homburg
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dr. Lutz Wiehlmann, Medizinische Hochschule Hannover, Prof. Dr. Dr. Burkhard Tümmler, Medizinische Hochschule Hannover
<b>Laufzeit:</b>	12 Monate; 01. März 2019 – 29. Februar 2020
<b>Fördervolumen:</b>	<b>50.000 €</b> (zunächst für Projektteil 1)

**Ziele:** Die Hypothese des Projektes ist, dass bei Mukoviszidose-Patienten im Verlauf der Lungenerkrankung Bakterien oder deren Bestandteile von der Lunge in das Blut übertragen werden und über diesen Weg auch Auswirkungen auf die Entzündungsreaktion im Körper haben können. Vorarbeiten der AG von Professor Bals zeigen, dass bei Mukoviszidose deutlich erhöhte Konzentrationen von bakteriellen Molekülen (bakterielles genetisches Material, DNS; bakterielle Strukturen der Zellmembran wie Lipopolysaccharid, LPS) im Blut vorhanden sind. In dem Projekt soll untersucht werden, ob aus Blutproben ein aussagekräftiger Laborwert (Biomarker) identifiziert werden kann, der sowohl über die Erkrankungsschwere als auch über die relevanten Mikroorganismen im Blut Auskunft gibt. Die Methode soll zunächst an wenigen Probanden und Patienten hinsichtlich der Variabilität und Reproduzierbarkeit weiterentwickelt werden und im zweiten Schritt an Blutproben von 120 Patienten mit und ohne CF in einer longitudinalen Studie nachweisen, welche Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen.

### **Methodik:**

#### **Projektteil 1:** Etablierung der Methode

Blutproben von CF-Patienten und gesunden Kontrollen werden auf verschiedene bakterielle Bestandteile untersucht. Anhand bakteriellen genetischen Materials (DNS) sollen Rückschlüsse auf die Gesamtheit der Mikroorganismen gezogen werden. Weiterhin werden typische Marker für eine Entzündung (Leukozyten, CRP, IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$ ) untersucht. Diese „Mikrobiom-Laborwerte“ könnten als Biomarker dienen und bakterielle Entzündungen anhand von Blutproben nachweisen. Um die Reproduzierbarkeit der Methode zu bewerten, werden zu verschiedenen Zeitpunkten mehrere Proben von CF-Patienten und gesunden Kontrollen über einen Zeitraum von zwei Tagen entnommen und überprüft, ob die „Mikrobiom-Laborwerte“ starken Schwankungen unterliegen.

**Projektteil 2:** Untersuchung der „Mikrobiom-Laborwerte“ hinsichtlich klinischer Anwendung Gelingt die Etablierung der Methode und kann eine gute Reproduzierbarkeit der „Mikrobiom-Laborwerte“ in Projektteil 1 nachgewiesen werden, soll Projektteil 2 durchgeführt werden. Dafür sollen Blutproben von CF-Patienten ohne akute

Projektförderung



Lungenentzündung, CF-Patienten unter akuten Entzündungen der Lunge und gesunden Probanden untersucht werden. Die ausgewerteten „Mikrobiom-Laborwerte“ werden anschließend in Bezug zu den klinischen Daten (z.B. FEV1) der Patienten gesetzt, um zu prüfen, ob Zusammenhänge zwischen den „Mikrobiom-Laborwerten“ und den klinischen Daten nachgewiesen werden können. Besteht ein Zusammenhang, wäre die Bestimmung der „Mikrobiom-Laborwerte“ aus dem Blut eine Möglichkeit, Hinweise auf klinische Veränderungen durch eine Blutanalyse erhalten zu können.

**Ausblick:** Das Projekt kann die Fragestellung beantworten, ob mikrobielle Bestandteile - aus der Lunge und/oder dem Darm - von CF Patienten in das Blut übertreten und zur CF-Symptomatik (z. B. Entzündungsgeschehen) beitragen. Darüber hinaus könnte die Untersuchungsmethode zur Analyse des Mikrobioms im Blut möglicherweise dazu verwendet werden, anhand der Bestimmung von bakteriellen Molekülen im Blut eine Aussage über die Erkrankungsschwere, die Prognose oder das Vorliegen einer akuten Verschlechterung zu treffen.

## Allergische Reaktionen auf Medikamente - Entwicklung von Strategien zum Umgang mit Antibiotika Allergien in Diagnostik und Therapie (1705)

<b>Projektleiter:</b>	Dr. Jobst Röhmel (Berlin)
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dr. Dean Naisbitt (UK-Liverpool)
<b>Laufzeit:</b>	24 Monate; 01. März 2018 – 29. Februar 2020
<b>Fördervolumen:</b>	<b>95.000 €</b>

**Einführung:** Unverträglichkeiten gegen Antibiotika sind bei Patienten mit Mukoviszidose ein häufiges Phänomen und führen oft zu einer erheblichen Verunsicherung sowohl bei den betroffenen Patienten als auch bei deren Behandlern. Da die Häufigkeit von Unverträglichkeitsreaktionen gegen Antibiotika bei anderen Krankheiten nicht in diesem Maße auftritt, liegen aktuell nicht genügend wissenschaftliche Erkenntnisse über den klinischen Umgang damit vor. Dementsprechend resultieren Unverträglichkeitsreaktionen regelmäßig in jahrelanger Vermeidung von wichtigen Antibiotika und führen somit zu einer nicht optimalen Behandlung der bakteriellen Infektionen und indirekt zu einem Fortschritt der Erkrankung. Zusätzlich wird der zu frühe und zu häufige Einsatz von Reserveantibiotika, durch vorsorgliche Vermeidung der im Verdacht auf allergische Reaktionen stehenden Antibiotika, befördert.

**Ziele:** Diese Studie hat das Ziel zu ermitteln, wann es klinisch wirklich geboten ist, ein Antibiotikum nach einer Unverträglichkeitsreaktion zu meiden und wann ein Antibiotikum trotz einer früheren Unverträglichkeitsreaktion, ggf. nach einer Desensibilisierung, sicher weiter verabreicht werden kann.

Um dies zu erforschen werden Patienten unter sicheren stationären Bedingungen die Medikamente, die sie nach in der Vergangenheit aufgetretenen allergischen Reaktionen nicht mehr bekommen haben, wieder erhalten. So soll systematisch ermittelt werden, wie hoch das Wiederholungsrisiko für Reaktionen ist. Es werden verschiedene Labortests und Hautallergietests durchgeführt, um deren Vorhersagewert für mögliche allergische Reaktionen gegen die einzelnen Medikamente zu ermitteln. Wenn sich diese Tests für eine bessere Vorhersagbarkeit eignen, könnten diese Tests zukünftig die diagnostischen Möglichkeiten zur Überprüfung und/oder Vorhersagbarkeit von allergischen Reaktionen auf Antibiotika erweitern.

**Methodik:** Geplant ist eine prospektive, interventionelle Studie, mit 100 CF Patienten aus Berlin und Umgebung, bei denen aufgrund einer früheren allergischen Reaktion ein Antibiotikum derzeit nicht mehr verabreicht wird. Diesen Patienten soll unter sehr gut kontrollierten Bedingungen (in der Klinik) das zuletzt gemiedene Antibiotikum erneut verabreicht werden. Bei Patienten, bei denen ein Vorab-Test (Prick-Test und Intracutan-

Projektförderung



Test) keine allergische Sensibilisierung nachweisen lässt, wird das Antibiotikum unter klinischer Beobachtung des Patienten erneut verabreicht. Zusätzlich werden Zellproben an das Labor von Dr. Dean Naisbitt der „Molecular and Clinical Pharmacology“ in University of Liverpool/ England verschickt. In diesem renommierten Labor für Immunpharmakologie werden die Zellen auf T-Zelluläre Sensibilisierung gegen Antibiotika untersucht. Weiter werden Serum- bzw. Plasmaproben in dem Deutschen Referenzlabor für Autoimmunhämolysen Transfusionsmedizin/ Charité Berlin auf hämolysierende Antikörper untersucht.

**Ausblick:** Die Studienergebnisse sollen dabei helfen, individuelle Überempfindlichkeitsreaktionen besser bewerten zu können und die antibiotischen Behandlungen weniger pauschal einzuschränken zu müssen sowie die zugrundeliegenden Immunmechanismen besser zu verstehen. Mit den Erkenntnissen sollen bakterielle Infektionen mit den zur Verfügung stehenden Antibiotika effektiver therapiert werden können.

## Signalübermittlung in Abwehrzellen der Lunge von CF-Patienten (1604)

<b>Projektleiter:</b>	Dr. Melanie Albrecht (Langen)
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Prof. Dr. Piet Hiemstra (Utrecht) Prof. Dr. Dr. Burkhard Tümmler (Hannover)
<b>Laufzeit:</b>	36 Monate; 01. Dezember 2016 - 30. November 2019
<b>Fördervolumen:</b>	<b>70.700 €</b>

**Ziele:** In dem Projekt geht es darum, bei Patienten mit Mukoviszidose die Regulation der überschießenden Immunreaktion zu verstehen. Viele publizierte Forschungsarbeiten der letzten Jahre lassen vermuten, dass bei Mukoviszidose Patienten durch bestimmte Abwehrzellen (Neutrophile Granulozyten) bestimmte Signalstoffe, die Cytokine IL17A und IL22, verstärkt ausgeschüttet werden und zu der CF-typischen überschießenden Entzündungsreaktion beitragen. Eine bei Mukoviszidose Patienten vermehrte Cytokin IL17A und IL22 Antwort könnte dazu führen, dass ein Entzündungsprozess permanent aufrecht erhalten wird und dass eine Regeneration des Gewebes, die Wundheilung, gestört wird. Die bei Mukoviszidose typischen Bakterien, *Pseudomonas aeruginosa*, könnten ursächlich sogar dazu beitragen, die Abwehrreaktion und Wundheilung aus dem Gleichgewicht zu bringen.

**Methodik:** An Gewebe von Mukoviszidose Patienten wird untersucht, ob die Abwehrzellen in stark entzündetem Gewebe wirklich hauptsächlich die für Entzündungsprozesse verdächtigen Cytokine IL17A und IL22 ausschütten und ob dadurch der Heilungsprozess erschwert oder verhindert wird. Die Arbeitsgruppe hat eine Methode etabliert (Wundheilungsmodell), wo diese Fragestellung anhand von Gewebeproben von CF Patienten untersucht werden kann. Als Material stehen der Forschergruppe Lungengewebe und Lymphknotengewebe (in Letzterem sind die Abwehrzellen besonders gut zu isolieren) von CF-Patienten nach Lungentransplantation zu Verfügung. Ebenso stehen der AG durch eine Kooperation mit Professor Tümmler verschiedene CF-typische Bakterienstämme zur Verfügung, mit denen der Einfluss der Bakterien auf die Immunreaktion untersucht werden kann.

**Ausblick:** Insgesamt ist das Forschungsvorhaben helfen, die Rolle der IL17-A und IL-22 Cytokine in der Immunreaktion bei Mukoviszidose zu verstehen. Kann der Zusammenhang zwischen bakterieller Infektion, den Abwehrzellen und den Cytokinen IL17-A und IL-22 bei CF aufgeklärt werden, so können spezifische Therapien entwickelt werden, die genau dort in der Immunreaktion angreifen, wo sie bei CF Patienten überschießt. Kann ein Zusammenhang hingegen nicht bestätigt werden, so ist auch das eine wichtige Antwort, um den Blick vieler Forscher, die derzeit auf IL17-A und IL-22 fixiert sind, in eine andere Richtung zu lenken, um so schneller die Lösung für die unkontrollierte Immunreaktion bei Mukoviszidose zu finden.

Projektförderung



und mit dem jeweiligen klinischen Verlauf der Patienten verglichen werden sollen.

**Ausblick:** Durch das Projekt wird erwartet, dass mehr Einsicht in das Zusammenspiel von CFTR-Mutation, SNP (also Genvarianten) und dem klinischem Verlauf der CF-Erkrankung erhalten werden kann – möglicherweise sind die SNPs der bislang unbekannte Faktor, der die Vorhersagbarkeit des Verlaufs des klinischen Krankheitsbild trotz bekannter CFTR-Mutationen so schwer macht. Das Projekt ist daher sehr wichtig, um die individualisierte Therapie bei Mukoviszidose weiter voranzubringen, die Medikation ist möglicherweise nicht allein von der CFTR Mutation abzuleiten, die Forscher können sich vorstellen, dass entsprechend individueller „SNP-Konstellation“ auch CFTR Modulatoren bei einem Patienten wirksam sein können, die allein aufgrund der CFTR-Mutation derzeit nicht eingesetzt werden. Denkbar ist aber auch, dass die Genvariation selber als neuer Ansatzpunkt zur Entwicklung von Medikamenten genutzt werden kann, um den durch einen SNP verursachten „Faltungsfehler“ im CFTR Protein zu vermeiden.



## Nachwuchsförderung

Mit diesem Förderkonzept sollen naturwissenschaftliche Doktoranden, junge Ärzte (z. B. in Facharztausbildung) und junge Wissenschaftler (Postdocs), die sich auf den Gebieten Therapie, Diagnostik sowie Präklinik / Grundlagenforschung der Mukoviszidose wissenschaftlich betätigen, finanziell unterstützt werden.

In der Nachwuchsförderung geht es primär darum, junge Kliniker oder Wissenschaftler durch eine zeitlich begrenzte Finanzierung von Personalmitteln die Möglichkeit zu geben, sich in der CF Forschung zu etablieren und Anerkennung durch eine wissenschaftliche Arbeit zu erlangen. Langfristig soll dadurch erreicht werden, dass diese Personen später eigene Arbeitsgruppen auf dem Gebiet der CF-Forschung initiieren und leiten können.

Die während der Förderphase durchgeführte Arbeit ist daher nicht primärer Gegenstand der Förderung, sondern Mittel zum Zweck die o. g. Ziele zu erreichen.



**Die Nachwuchsförderung soll es jungen und engagierten Forschern in der Qualifikationsphase ermöglichen, sich in dem Gebiet der CF-Forschung zu etablieren.**

Derzeit kein Projekt in Förderung

## Kleinprojekte

### (Projektetat max. 20.000 €)

Dieses Fördermodul ist für schnell zu überprüfende Konzepte gedacht, wobei Vorarbeiten die Idee begründen müssen. Die Beantragung von Kleinprojekten ist ohne Begrenzung auf ein Schwerpunktthema möglich. Das Antragsverfahren ist verhältnismäßig einfacher gestaltet im Vergleich zu den anderen Fördermodulen, da weniger Vorarbeiten verlangt werden und der Umfang des Antrags geringer ist.



## Identifikation von extrazellulären Antigenen und Virulenzfaktoren von *Pseudomonas aeruginosa* unter anaeroben Bedingungen (1904)

<b>Projektleiter:</b>	Dr. Sandra Schwarz (Tübingen)
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dr. Annika Schmidt (Tübingen)
<b>Laufzeit:</b>	12. Monate; 01. März 2019 – 29. Februar 2020
<b>Fördervolumen:</b>	<b>20.000 €</b>

In dem Projekt werden von den Forschern Proteine untersucht, die von *Pseudomonas aeruginosa* unter anaeroben Bedingungen (d. h. unter Sauerstoffabschluss) in die Umgebung abgegeben werden. Allgemein spielen viele bakterielle Proteine, die in das extrazelluläre Milieu abgegeben werden (Exoproteine), eine wichtige Rolle in der Nährstoffaufnahme oder in der Manipulation der Immunabwehr des Menschen. Hieraus erhoffen sich die Forscher, noch unbekannte Proteine zu identifizieren, gegen die Antikörper gebildet werden und die von den Bakterien für das Überleben in der Lunge benötigt werden oder diese schädigen.

*Pseudomonas aeruginosa* kann sich extrem gut und schnell an Veränderungen der Umgebungsbedingungen anpassen; z. B. indem Transportprozesse oder die Produktion von Proteinen an- oder abgeschaltet werden. Hierfür sind keine genetischen Veränderungen (z. B. Mutationen) notwendig. Es ist gezeigt worden, dass die Lunge von bereits jüngeren CF-Patienten Bereiche mit wenig oder gar keinem Sauerstoff aufweisen kann. Die Eigenschaften der Bakterien, die sich in einer sauerstoffarmen Nische befinden, sind jedoch weitestgehend unbekannt. Vorherige Untersuchungen der Forscher zeigten, dass *Pseudomonas aeruginosa* unter anaeroben Bedingungen andere Proteine in die Umgebung abgibt als unter aeroben Bedingungen und sich unter den anaeroben Exoproteinen potentiell krankmachende Faktoren finden. Die Tatsache, dass einige dieser Faktoren noch unbekannt sind, veranlasste die Forscher in diesem Projekt die Gesamtheit aller anaeroben Exoproteine zu untersuchen. Es sollen Exoproteine gefunden und charakterisiert werden, die einen Einfluss auf das Immunsystem und/oder die Lungenfunktion haben.

Es sollen Blutseren von ca. 50 CF-Patienten mit chronischer *Pseudomonas*-Infektion verwendet werden, um über die im Blut vorhandenen Antikörper der Patienten die immunoreaktiven Exoproteine von *Pseudomonas aeruginosa* „herauszufischen“. Die dadurch gefundenen Exoproteine werden mit biochemischen Methoden charakterisiert. Die Exoproteine, die von Antikörpern von mehreren CF-Patienten erkannt werden, sollen anschließend im Labor hergestellt und hinsichtlich der immunogenen Wirkung überprüft werden. Bestätigt sich, dass diese Exoproteine durch Antikörper gebunden werden, so ist

Kleinprojektförderung



davon auszugehen, dass diese Exoproteine tatsächlich eine immunoreaktive Wirkung haben. Gelingt es durch diesen Ansatz, immunogene Exoproteine zu identifizieren, könnten daraus neue Therapieansätze auch für die frühe Infektion, möglicherweise auch für eine prophylaktische Behandlung (z. B. Impfstoffentwicklung) abgeleitet werden. Zudem könnten Proteine, die *Pseudomonas aeruginosa* verwendet, um in der Lunge zu überleben und/oder die Lunge zu schädigen neue therapeutische Angriffspunkte darstellen.

## Zelltod durch Ferroptose bei Mukoviszidose (1903)

<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Karl Kunzelmann, Universität Regensburg
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Roberta Benedetto, Prof. Dr. Rainer Schreiber, Dr. Jiraporn Ousingsawat (alle Universität Regensburg); Prof. Dr. Stefan Krautwald, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, biomedizinische Forschung und Transplantation; Prof. Dr. Margarida Amaral, Faculty of Sciences, University of Lisboa
<b>Laufzeit:</b>	12 Monate; 15.01.2019 - 14.01.2020
<b>Fördervolumen:</b>	<b>20.000 €</b>

**Ziel des Projektes:** Bei CF führt die chronische Entzündung zu einer Zerstörung und zum Absterben der Lungen-Epithelzellen. Dieser sogenannte programmierte Zelltod wird Apoptose genannt und ist relativ gut untersucht. Die Ferroptose hingegen bezeichnet einen erst vor wenigen Jahren erstmals beschriebenen Prozess, der ebenfalls dazu führt, dass Zellen im Gewebe absterben. Initiiert wird dieser Prozess durch freie Sauerstoffradikale (ROS = reactive oxygen species), die gerade bei bakteriellen und viralen Entzündungen als körpereigene Waffen gegen diese Krankheitserreger eingesetzt werden. Die Ferroptose wurde bisher nicht in Lungenepithelzellen bei CF erforscht, da die Ferroptose aber mit entzündlichen Vorgängen in Verbindung gebracht wird, liegt die Vermutung nahe, dass sie auch bei CF in der Lunge eine Rolle spielen könnte. Die Arbeitsgruppe von Professor Kunzelmann hat Hinweise aus eigenen Untersuchungen, dass die Membrankanäle ANO6 (Anoctamin 6, TMEM-16F) und CFTR interagieren und gemeinsam den ROS-vermittelten Zelltod über Ferroptose einleiten und die Apoptose vielleicht in der CF-Lunge sogar nur eine untergeordnete Rolle spielt. Die Arbeitsgruppe um Prof. Kunzelmann konnte bereits zeigen, dass der alternative Chloridkanal ANO6 in CF-Zellen aktiver ist und in das Absterben von Zellen involviert sein könnte. Es wird vermutet, dass ANO6 auch bei CF den Prozess der Ferroptose ermöglicht. Das soll nun an Lungengewebe explantierter Lungen und in Zellmodellen untersucht werden. Sollte ANO6 das Absterben von Zellen in entzündlichen Prozessen bei CF fördern, könnte eine Hemmung des Kanals als therapeutischer Ansatz genutzt werden. ANO6-Hemmstoffe sind bereits bekannt.

## Entwicklung eines Tests zur Diagnostik von Infektionen mit *Mycobacterium abscessus* (1902)

<b>Projektleiter:</b>	Dr. Mathis Steindor, Universitäts-Kinderklinik Essen und Prof. Dr. Monika Lindemann, Universitätsklinik Essen
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	PD Dr. Florian Stehling u.a.; Universitäts-Kinderklinik Essen  Dr. Matthias Welsner u. a.; Ruhrlandklinik Essen
<b>Laufzeit:</b>	24 Monate; 15. Januar 2019 – 14. Januar 2021
<b>Fördervolumen:</b>	<b>20.000 €</b>

**Ziel:** Es soll ein diagnostischer Test zur sicheren und frühzeitigen Erkennung von Infektionen durch Bakterien aus dem *Mycobacterium abscessus* complex (MABC) entwickelt werden, da die bisher genutzten mikrobiologischen Methoden zur Diagnostik, die vor allem auf die Anzucht der Bakterien basieren, sehr zeitaufwändig und fehleranfällig sind. In Vorarbeiten hat die Arbeitsgruppe verschiedene Proteine des MABC identifiziert, die eine spezifische Immunantwort der Abwehrzellen (über T-Zellen) auslösen können. Es soll in dem Projekt nun mit Hilfe dieser Proteine ein sogenanntes Interferon Gamma Release Assay (IGRA) für die Diagnose einer MABC-Infektion entwickelt werden, wie es zum Beispiel für die Tuberkulose bereits zur Verfügung steht.

**Methodik:** Die fünf vielversprechendsten der in den Vorarbeiten identifizierten Proteine werden im ersten Arbeitsschritt im Labor hergestellt und gereinigt. Mit diesen gereinigten Proteinen wird ein Testsystem (Interferon Gamma Release Assay, IGRA) entwickelt, in dem Abwehrzellen aus dem Blut von MABC-positiven CF-Patienten stimuliert werden und anschließend die Menge von produzierten Entzündungssignalen (Interferon) gemessen wird. Als Kontrolle wird das Blut von CF-Patienten ohne MABC-Infektion getestet sowie von Patienten mit anderen mykobakteriellen Infektionen. Diese Untersuchungen werden zeigen, ob die ausgewählten Proteine eine spezifische Zellantwort hervorrufen und die Messung der Interferon Freisetzung zur schnellen und sicheren Diagnose einer *Mycobacterium abscessus*-Infektion aus einer Blutprobe geeignet ist.

**Ausblick:** Durch den Test soll es möglich werden, MABC-Infektionen schnell und zuverlässig anhand einer Blutprobe zu diagnostizieren.

## Erhebung zur aktuellen Praxis physiotherapeutischer Maßnahmen bei Kindern und Jugendlichen (Physiotherapy for Children and Adolescents with Cystic Fibrosis - Getting an Overview on Current Practice) (1802)

<b>Projektleiter:</b>	Tina Hellmuth (Hannover)
<b>Laufzeit:</b>	24 Monate; 01. März 2018 – 29. Februar 2020
<b>Fördervolumen:</b>	<b>4.000 €</b>

**Ziele:** Im Rahmen des Projektes soll monozentrisch in Hannover (MHH) eine Umfrage zur Häufigkeit und Intensität der Physiotherapie an allen Patienten von 0-17 Jahren durchgeführt werden. Für eine Pilotstudie mit Kindern (0-6 J; 2016) wurde bereits ein Fragebogen entwickelt und getestet. Dieser wird weiterentwickelt und in einer modifizierten Version für das Projekt verwendet. Die Befragung soll als Querschnittanalyse ausgewertet werden. Zusätzlich soll bei Patienten der Pilotstudie von 2016 anhand von klinischen Daten (FEV1, LCI) im Langzeitverlauf ermittelt werden, ob ein Zusammenhang zwischen der erfolgten Physiotherapie und dem Gesundheitszustand nachweisbar ist.

**Durchführung:** Alle Mukoviszidose-Patienten zwischen 0 und 17 Jahren (bzw. deren Eltern) erhalten einen pseudonymisierten Fragebogen, in welchem Fragen zur Häufigkeit und Intensität der Physiotherapie beantwortet werden sollen. Zusätzlich werden die Mukoviszidose Patienten, die 2016 im Alter von 0 bis 6 Jahren schon an einer Pilotstudie teilgenommen haben, erneut befragt, um Daten im zeitlichen Verlauf (d. h. nach 2 Jahren) zu erhalten.

Durch eine Korrelation der erhobenen Physiotherapie-Daten mit klinischen Daten zum Gesundheitszustand der Patienten sollen Erkenntnisse gewonnen werden, welche physiotherapeutischen Maßnahmen von welchen Patientengruppen durchgeführt werden und ob klinische Effekte gesehen werden können.

**Ausblick:** Das Thema Physiotherapie ist wichtig und es gibt wenig systematische Untersuchungen dazu. Die monozentrisch geplante Studie kann ein sinnvoller Anfang sein, um die Physiotherapeutischen Maßnahmen systematisch zu erheben und die Auswirkung auf den Gesundheitszustand zu betrachten. Davon ausgehend, könnten weitere systematische Untersuchungen unter Einbeziehung weiterer CF-Zentren und des Arbeitskreises Physiotherapie geplant werden mit dem langfristigen Ziel, Leitlinien für die CF-Physiotherapie zu erarbeiten.



## Untersuchungen zur Regulation der Entzündung bei Mukoviszidose auf epigenetischer Ebene (Epigenetic Regulation of Resolution of Inflammation in Cystic Fibrosis) (1801)

<b>Projektleiter:</b>	Dr. Olaf Eickmeier (Frankfurt/Main)
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Prof. Dr. Ralf Schubert (Frankfurt/Main) Prof. Dr. Christopher Beermann (Fulda)
<b>Laufzeit:</b>	12 Monate; 01. September 2018 – 31. August 2019
<b>Fördervolumen:</b>	<b>20.000 €</b>

**Ziele:** Resolve sind körpereigene hochaktive Lipid- (Fett-) Mediatoren, die die Rückbildung (Resolution) der Entzündung fördern. Resolve sind Stoffe, die aus Omega-3-Fettsäuren (z. B. in Fischöl) vom Körper selbst hergestellt werden. Die Forscher vermuten, dass der Verlauf der Mukoviszidose über die Expression von microRNAs (miRNAs) entscheidend beeinflusst wird. MiRNAs spielen eine wichtige Rolle in Bezug auf das Ausschalten von Genen. MiRNAs sind kleine Botenmoleküle, die für das Fortschreiten von Erkrankungen, einschließlich Lungenerkrankungen, verantwortlich gemacht werden. Inwiefern Resolve die Expression von miRNAs beeinflussen oder ob das Vorliegen einiger miRNAs die Produktion von Resolvinen steuert ist für die Mukoviszidose nicht bekannt.

Resolvin D 1 wurde bei Mukoviszidose Patienten und gesunden Kontrollen von dem Antragsteller bereits untersucht und gezeigt, dass Resolvin D 1 im Blut und auch im Sputum nachgewiesen werden kann. Bei Patienten, die aufgrund des Vorliegens einer Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* mehr Entzündung und eine schlechtere Lungenfunktion aufwiesen, war Resolvin D1 im Verhältnis zu anderen pro-inflammatorischen Mediatoren jedoch erniedrigt. Resolvin-D 1 könnte daher als Biomarker für Rückbildung der Entzündung verwendet werden (Eickmeier O. et al. *Pro-resolving lipid mediator Resolvin D1 serves as a marker of lung disease in cystic fibrosis. PLoS One 2017 Feb 3;12 (2)*). In dem nun geförderten Projekt soll eine Pilotstudie bei Mukoviszidose Patienten durchgeführt werden, die die Frage klären soll, ob Resolvin D1 das Entzündungsgeschehen über miRNA - und damit auf posttranskriptionaler Ebene reguliert.

**Durchführung:** In der klinischen Studie soll an 10 CF Patienten und 10 gesunden Kontrollen geprüft werden, ob Resolvin D1 im Sputum und Blut von CF Patienten/ gesunden Probanden nachgewiesen werden kann und die Konzentration mit dem Entzündungsgeschehen korreliert. Untersuchungen von Genprodukten in den dazugehörigen Blutproben (miRNA Analyse: Analyse aller miRNAs die an der epigenetischen Expression der Gene beteiligt sind) sollen zeigen, welche Gene herunter – oder herauf reguliert werden. Die Ergebnisse sollen damit Hinweise liefern, ob Resolvin D1 über inhibitorische RNA Entzündungen im Körper reguliert.

Kleinprojektförderung



**Ausblick:** Bei Mukoviszidose Patienten ist Resolvin D 1 im Vergleich zu gesunden Kontrollen verändert und daher ein sehr interessantes Signalmolekül, welches am Entzündungsgeschehen in der Lunge, beteiligt sein könnte. Die Pilotstudie ist wichtig, um das CF-typische Entzündungsgeschehen besser zu verstehen und Resolvin D1 ggf. in Zukunft als möglichen Kandidaten zur Entwicklung neuer anti-inflammatorischer Konzepte weiter zu verfolgen.

## Untersuchung zu dem Zusammenhang zwischen der familiären Situation und dem Krankheitsverlauf bei Mukoviszidose (1703)

<b>Projektleiter:</b>	Prof. Dr. Andrea Heinzmann (Freiburg)
<b>Beteiligte Wissenschaftler:</b>	Dipl. Psych. Isolde Krug (Freiburg) Dr. Dipl. Psych. Michael Barth (Freiburg),
<b>Laufzeit:</b>	12 Monate; 01. Mai 2018 - 30. April 2019 kostenneutral verlängert bis 31.07.2019
<b>Fördervolumen:</b>	<b>20.000 €</b>

**Ziele:** In dem Projekt soll anhand von Interviews der Einfluss der familiären Umgebung auf den Krankheitsverlauf untersucht werden. Bislang wird in der CF-Behandlung dieser Zusammenhang wenig betrachtet und in Untersuchungen eher darauf geschaut, wie sich die CF-Erkrankung auf das psychische Wohlbefinden und das soziale und familiäre Umfeld auswirken. Die Perspektive dieser Arbeitsgruppe betrachtet den Zusammenhang in umgekehrter Richtung und es wird gefragt, inwieweit das familiäre, häusliche Umfeld den Verlauf der CF-Erkrankung beeinflusst und welche Unterstützungsmöglichkeiten sich ergeben.

**Methodik:** In dem Projekt soll der Fokus auf ein CF-typisches, häufiges innerfamiliäres Problemfeld gelegt werden: Ernährung und Essverhalten. Es ist geplant, im Rahmen des Projektes Interviews an 16 Familien hinsichtlich der familiären Situation rund um die Ernährung durchzuführen. Die Interviews sollen anhand eines dafür erstellten semi-strukturierten Fragebogens ablaufen, so dass eine vergleichende Auswertung der verschiedenen Interview-Ergebnisse zur Beantwortung der Fragestellung möglich ist. Das Arbeitsprogramm sieht vor, dass acht Familien mit bekannter Problematik beim Essverhalten/Gedeihen des Kindes mit CF und acht Familien ohne dieses Spannungsfeld vom CF-Team ausgewählt werden. Die Personen, die die Interviews durchführen und auswerten werden, sind bezüglich der jeweiligen Gruppenzuordnung verblindet.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung bilden die Grundlage für die Entwicklung eines Fragebogens für eine spätere Anwendung in der CF-Praxis, um Familien zukünftig identifizieren zu können, die besondere Unterstützung hinsichtlich der Ernährungssituation erhalten sollten. Ebenso soll auf Basis der Ergebnisse die ein spezifisches Interventionsprogramme für Familien mit Ernährungsschwierigkeiten bei einem Kind mit Mukoviszidose entwickelt werden. Die Implementierung und Evaluation eines solchen Programms ist nicht innerhalb des Projekts vorgesehen, könnte aber Inhalt eines Folgeprojekts sein.