

Defensin-Defekte bei Morbus Crohn

Neueste Daten und Auswirkungen auf zukünftige Therapieansätze

Dr. Jan Wehkamp · Dr. Klaus Fellermann

Defensine sind körpereigene Antibiotika, die antimikrobielle Eigenschaften gegen Bakterien, Pilze, Viren und Protozoen haben. Im Magen-Darm-Trakt regulieren Defensine die Zusammensetzung und Zahl der kolonisierenden Mikroben, schützen den Körper vor krankmachenden Organismen und auch der eigenen Flora, den üblichen „Bewohnern“ des menschlichen Darms, wie z.B. die Verdauung befördernde Bakterien. Im gesunden Zustand ist die normale Beziehung des Körpers mit der normalen (kommensalen) Mikroflora für den Darm und Körper von Vorteil und gewinnbringend, aber die gleichen „normalen“ Bakterien spielen eine entscheidende Rolle im Krankheitspro-

zess von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Eine gestörte antimikrobielle Abwehr, für die zu großen Teilen Defensine verantwortlich sind, scheint eine kritische Rolle in der Krankheitsentstehung von Morbus Crohn zu spielen. Wie wir in den letzten Jahren gezeigt haben, gibt es bei Morbus Crohn zwei grundsätzlich verschiedene Defensin-Defekte. Dabei sind diese spezifischen Defensin-Defekte jeweils für die wesentlichen klinischen „Phänotypen“ (Erscheinungsbilder), vor allem für die Krankheits-Lokalisationen des Morbus Crohn (Dünndarm- und Dickdarm-Befall) charakteristisch. Wir sind überzeugt, dass diese Erkenntnisse, so-

wie die weitere Erforschung der zugrunde liegenden Mechanismen, in den nächsten Jahren letztendlich die Grundlage für neue therapeutische Wege schaffen werden.

Defensine bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Auf der Basis von klinischen Befunden und von krankhaften Veränderungen der Zellen im entzündeten Gewebe werden chronisch entzündliche Erkrankungen des Magen-Darmtrakts (CED) bisher in zwei Hauptgruppen eingeteilt, Colitis ulcerosa und Morbus Crohn. In beiden Formen von CED, besonders aber bei Morbus Crohn, wird angenommen, dass Bakte-

rien im Darm die Entzündung bei genetisch veranlagten Menschen auslösen.

Während bei Colitis ulcerosa die Entzündung normalerweise nur im Dickdarm vorkommt, kann Morbus Crohn im Prinzip überall im Darm auftreten. Die meisten Patienten haben die Entzündung im terminalen Ileum (Dünndarm), sowie im Dickdarm. Etwa ein Drittel der Morbus Crohn Patienten haben eine Mutation im NOD2-Gen, wel-

ches die genetische Information für ein Eiweiß zur Erkennung von Bakterien trägt (siehe den Beitrag von Dr. Jan Michel Otte).

Weitere klinische Analysen haben sehr klar gezeigt, dass diese Mutation vor allem mit dem klinischen Typ eines Dünndarm-Crohn assoziiert ist. Für einen Morbus Crohn des Kolon sind bisher keine verursachenden Gene bekannt, wobei wir in Kürze einen bisher noch vollkommen

unbekannten Gendefekt vorstellen werden. Die mögliche Rolle von antimikrobiellen Defensinen im Krankheitsprozess von Morbus Crohn war der Mittelpunkt von aktuellen Untersuchungen. Bereits vor acht Jahren haben wir in Lübeck die Hypothese

Mutation

Veränderung des Erbguts, z.B. durch Umwelteinflüsse, aber auch ohne klar erkennbare Ursache

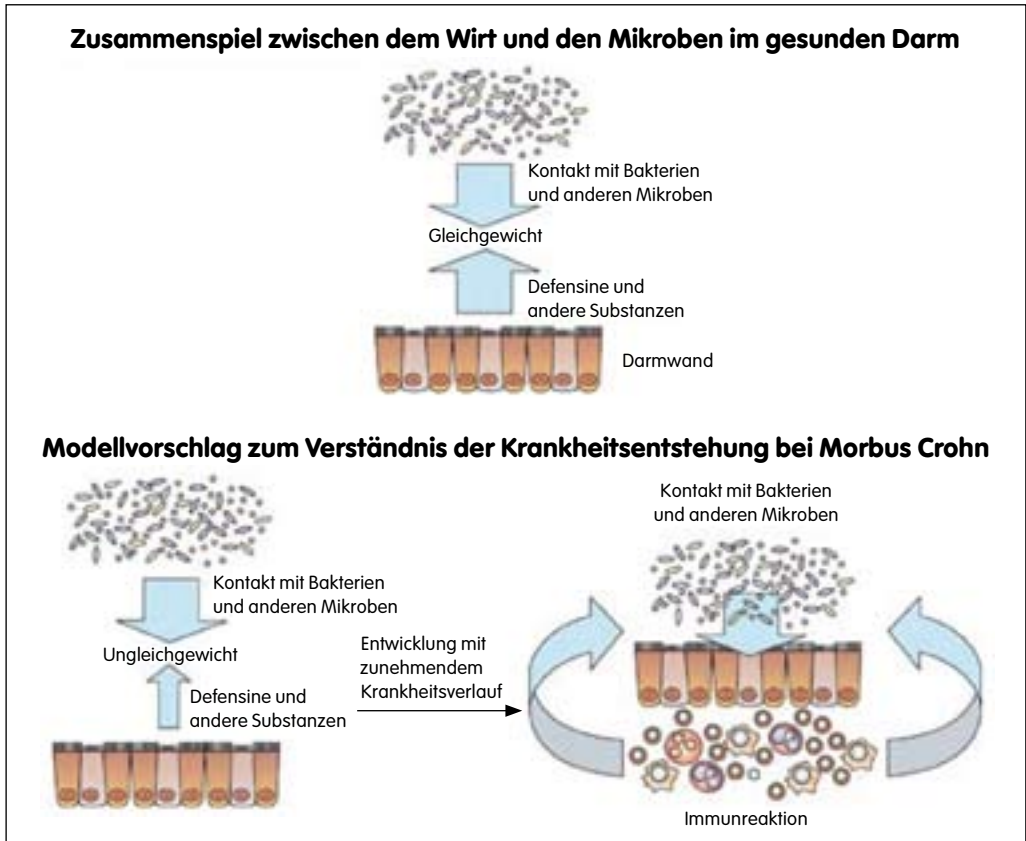


Abbildung 1, aus: Wehkamp et al. Nature Clin Pract. 2005.

Abbildung 2: Panethzellen, die normal nur im Dünndarm vorkommen, befinden sich in den Vertiefungen zwischen den Darmzotten. Diese Zellen geben Defensine ab, die das Eindringen von Bakterien in die Darmwand verhindern. Bei MC-Patienten ist dieser Mechanismus gestört. (Abbildung von Dave Schumick und Charles Bevins).



entwickelt, dass CED, insbesondere der Morbus Crohn, durch einen Abwehrdefekt gegen Bakterien, d.h. einen Defensinmangel ausgelöst sein kann. Ein Modell über die Rolle von Defensinen und der im Darm vorhandenen Bakterien in der Entstehung von Morbus Crohn ist in Abbildung 1 dargestellt.

Dünndarm-(Ileum)-Crohn und eine verminderte Häufigkeit von Panethzell- α -Defensinen im Dünndarm

Es ist zunächst wichtig, sich die Besonderheiten des Dünndarms klarzumachen. Der Dünndarm ist vor allem für die Nahrungsaufnahme (Resorption) wichtig. Um die Nährstoffe aufnehmen zu können, ist die Oberfläche durch so genannte Zotten extrem vergrößert. Für Bakterien wären hier ideale Wach-

tumsbedingungen, es ist warm und es gibt unendlich viel zu „futtern“. Trotzdem ist der Dünndarm im Vergleich zum Dickdarm nahezu keimfrei. Hierfür sind so genannte „Panethzellen“ verantwortlich, die in hoher Zahl nur im Dünndarm vorkommen. Diese Zellen, die sich am Boden der Vertiefungen (Krypten) zwischen den Darmzotten befinden (siehe Abbildung 2), bilden und sondern in sehr hohen Konzentrationen Substanzen ab, die wie Antibiotika wirken, vor allem die Panethzell- α (alpha)-Defensine HD5 und HD6. Durch die dauernde Produktion dieser Antibiotika wird also die Bakterienzahl im Dünndarm reguliert und niedrig gehalten. Außerdem wird verhindert, dass Bakterien aus dem Dickdarm in den Dünndarm einwandern können. Zur Erkennung von Bakterien wird gleichzeitig in der Dünndarmschleimhaut der Bakte-

rienrezeptor NOD2 (ein „Morbus Crohn-Gen“) gerade in Panethzellen gebildet (exprimiert), was sehr gut zu einer möglichen Rolle von Panethzell-Defensinen bei Morbus Crohn passt.

Die Rolle des NOD2-Gens

Wie wir bereits berichtet haben, zeigen Patienten mit einer Mutation in diesem Gen eine deutlich verminderte Bildung von Panethzell-Defensinen auf. Unsere Studien bei einer Gruppe von deutschen Morbus Crohn-Patienten wurden jetzt im Tiermodell, sowie in eigenen Arbeiten und Studien anderer Forschungsgruppen bestätigt, z.B. bei Crohn-Patienten in Japan, England und den USA. Unsere Daten konnten auch in einem NOD2-defizienten Mausmodell bestätigt werden: NOD2-Knock-out-Mäuse, denen nur dieses eine Gen fehlt (bei denen NOD2 „ausgeknockt“ ist), zeigen eine erniedrigte Zahl von Panethzell α -Defensin. Besonders interessant ist dabei, dass diese Mäuse gegenüber einer oralen, nicht aber einer systemischen bakteriellen Infektion mit einem bestimmten Bakterium stärker anfällig sind. Diese einfache biologische Beobachtung unterstützt die Bedeutung von NOD2 in seiner Funktion

der antimikrobiellen Oberflächen-Abwehr. Zusammengefasst besteht damit eine sehr klare und wissenschaftlich fundierte Verbindung zwischen NOD2-Mutationen, Panethzell-Defensinen und Morbus Crohn des Dünndarms.

In Japan gibt es so gut wie keine NOD2-Mutationen

Unabhängig von Mutationen im NOD2-Gen, konnten wir zeigen, dass die Panethzell- α -Defensine HD5 und HD6 bei allen Morbus Crohn-Patienten mit Dünndarmbefall deutlich vermindert gebildet werden. Die geringeren Mengen der Panethzell-Defensine in japanischen Patienten sind hier ein wichtiger Beleg, weil es in Japan so gut wie keine NOD2-Mutationen gibt. Dieses Phänomen war jedoch bei Patienten aus Deutschland, England und den USA mit einer NOD2-Mutation noch weiter ausgeprägt. Im Gegensatz dazu ist die Produktion von Panethzell- α -Defensinen im Dünndarm bei Patienten mit Morbus Crohn des Kolons unverändert.

Weniger Defensine – Gefahr von Bakterien auf der Schleimhaut

Neben der einfachen Feststellung, dass Defensine er-

niedrig sind, wissen wir nun auch weit mehr über die Funktion dieses Defekts. Erstmals konnten wir zeigen, dass passend zu einer Verminderung der Panethzell-Defensine die Schleimhaut der gleichen Patienten weniger antimikrobielle Aktivität aufweist. Dafür verwendeten wir ein von Dr. Sabine Nuding in unserer Stuttgarter Arbeitsgruppe neu entwickeltes Gerät, mit dem sich antimikrobielle Aktivität in Biopsieextrakten messen lässt. Eine verminderte antibiotische Aktivität der Oberfläche des Darminnen bei Morbus Crohn erklärt auch sehr wahrscheinlich, warum sich vermehrt anhaftenden normalen Bakterien auch immer wieder verschiedene Krankheitserreger nachweisen lassen, hierzu zählen auch die Mykobakterien.

Um die funktionellen Auswirkungen einer Verringerung von Panethzell-Defensinen weiter testen zu können, verwendeten wir genetisch veränderte Mäuse. Diese Mäuse produzieren in ihrem Dünndarm, und zwar ausschließlich in Panethzellen, das menschliche(!) Panethzell-Defensin HD5. Durch die Produktion dieses menschlichen Gens in Mäusen hatten wir die Möglichkeit, speziell den Einfluss des bei Morbus Crohn-Patienten verminderten Defensins

auf die Bakterienflora zu untersuchen. Das Ergebnis war beeindruckend: das Vorhandensein dieses Defensins hatte einen sehr deutlichen Effekt auf die Zusammensetzung der Darmflora. Insofern ist die Bildung von HD5 in jedem Fall relevant. Um jedoch testen zu können, ob kleine Unterschiede ebenfalls von Relevanz sind, verglichen wir die Darmflora von genetisch gleichen und genetisch unterschiedlichen HD5-Mäusen, die sich nur gering in der Menge des gebildeten HD5 unterscheiden. Dabei zeigte sich, dass selbst diese geringen Unterschiede die Zusammensetzung und Gestalt der im Darm befindlichen Bakterien stark verändern, was auf die enorme Empfindlichkeit dieses Systems schließen lässt.

Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Morbus Crohn mit Ileumbefall durch eine funktionell relevante Verringerung von Panethzell-Defensinen charakterisiert ist. Die Rolle der NOD2-Mutation gibt dabei erste Hinweise auf den Mechanismus. Es ist vorstellbar, dass Patienten mit Ileumbefall ohne NOD2-Mutation Veränderungen in weiteren Bakterienerkennungsmolekülen aufweisen, was dann die Erniedrigung der

Panethzell-Defensine in dieser Gruppe erklären könnte.

Morbus Crohn des Kolons und eine eingeschränkte Bildung von β -Defensinen

Im Dickdarm ist die Situation ganz anders. Hier gibt es mehr Bakterien, als wir menschliche Zellen im gesamten Körper haben. Die Bakterien werden hier gebraucht, sie spalten die Nahrungsbestandteile weiter auf und sind darüber hinaus für eine Vielzahl von Funktionen wichtig (siehe Artikel von Dr. Frick und Prof. Peschel). Passend zu der hohen Bakterienzahl werden auch nicht, wie im Dünndarm, permanent hohe Konzentrationen von körpereigenen Antibiotika gebildet. Es gibt hier nur ein β (beta)-Defensin, dass von den Oberflächenzellen ständig produziert wird, die Konzentration liegt aber um den Faktor 1000 unter den Werten der Panethzell-Defensine. Die Häufigkeit dieses β -Defensins (HBD1) scheinen während der Entzündung bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen leicht reduziert zu sein, es gibt aber bisher keine Daten dazu, welche Bedeutung dieser Beobachtung für das Krankheitsgeschehen

hat. Im Gegensatz zu HBD1 werden alle anderen bisher bekannten Defensine nur bei besonderer Bedrohung gebildet und sind im gesunden Darm nicht zu finden. Die Entzündung ist so eine bedrohliche Situation: Der Körper versucht sich dann gegen das Eindringen weiterer Bakterien zu schützen und reagiert, indem er die so genannten induzierbaren β -Defensine (HBD2, HBD3 und andere) bildet und ins Darmlumen (Darminnenraum) abgibt. Wie eine Vielzahl von Studien belegen, scheint dieser Schutzmechanismus bei Patienten mit Colitis ulcerosa zu funktionieren. Während sich also Colitis ulcerosa-Patienten durch die Bildung dieser Defensine (HBD2 und andere, die alle ein unterschiedliches antibakterielles Spektrum haben) schützen können, scheint dieser Mechanismus bei Morbus Crohn gestört zu sein.

Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit Ausnahme eines β -Defensins (HBD1) keine weiteren β -Defensine im normalen Dickdarm gefunden wurden. Bei Colitis ulcerosa findet während der Entzündung eine adäquate Synthese von einer Reihe von erst im Entzündungsfall auf-

tretenden (induzierbaren) β -Defensinen statt, während dieser Schutzmechanismus bei Morbus Crohn des Dickdarms bei gleichem Entzündungsgrad geschwächt erscheint. Die Erklärung dieses Phänomens scheint genetische Ursachen zu haben.

Therapeutische Konsequenzen und Ausblicke

Mit Ausnahme der Probiotika zielen alle zurzeit erhältlichen Therapien darauf ab, die Entzündung zu unterdrücken. Gleichzeitig sind die Nebenwirkungen teilweise erheblich und der therapeutische Erfolg lässt nicht selten zu wünschen übrig. Dieses Therapiekonzept macht natürlich trotzdem Sinn, insbesondere dann, wenn man davon ausgeht, dass eine „Fehlsteuerung“ der Entzündungszellen das primäre Problem der Erkrankung darstellt. Das Problem scheint aber woanders zu liegen: die Entzündungszellen reagieren, weil sie dauernd mit den Bakterien in Kontakt kommen. Deshalb wäre es zumindest ebenso sinnvoll, diesen Kontakt zu verhindern und die oft zitierte Barrierefunktion des Darms zu stärken. Das Wissen über Defensine und andere kör-

pereigene Antibiotika könnte somit einen substantiellen Einfluss auf zukünftige therapeutische Strategien haben. Speziell bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen könnten diese Strategien darauf abzielen, schützende (protektive) angeborene Immunmechanismen zu stärken.

Wir konnten vor kurzem zeigen, dass probiotische Bakterien wie *E. coli* Nissle 1917 (Mutaflor®), aber auch andere Probiotika wie *Lactobacileni*, antimikrobielle Substanzen erfolgreich auftreten lassen helfen. Eine solche Defensininduktion ist ein wichtiger Mechanismus, wie die Schleimhaut das Eindringen von Bakterien verhindert. Probiotische Bakterien sind dabei die ersten Medikamente (im Falle von Mutaflor®) für chronisch entzündliche Darmerkrankungen, von denen wir sicher wis-

Danksagung

Wir danken der Robert Bosch Stiftung, die uns in unserer Forschung immer großzügig unterstützt hat.

Danken möchten wir auch den vielen Patienten, die unsere Forschung durch die Bereitstellung von Gewebeprobe n unterstützt haben.

sen, dass sie die angeborenen Abwehrmechanismen stärken. In Zusammenarbeit mit Professor Bevins beginnen wir zurzeit, Panethzell-Defensine in größeren und vielleicht therapeutischen Mengen herzustellen. Diese könnten dann direkt zur Verstärkung der Darmbarriere eingesetzt werden. Es gibt jedoch noch einige Hürden zu überwinden, und es wird auch noch einige Jahre dauern, bis sich diese Therapien wirklich in die Praxis umsetzen lassen.

Es gibt aber jetzt erstmals objektive Befunde eines Defekts, auf den sich neue The-

rapieformen aufbauen und entwickeln lassen. Deshalb glauben wir, dass der Anfang gemacht ist, vielleicht in Zukunft eine ursächliche Therapie des Morbus Crohn zu entwickeln. Colitis ulcerosa-Patienten werden sich fragen, ob das Problem bei ihrer Erkrankung vielleicht ähnlich gelagert ist. Hier sind weitere Forschungsansätze in Richtung der angeborenen Immunität sicher sinnvoll, aber es ist noch ein langer Weg, der viel Geduld und vielleicht auch einmal finanzielle Unterstützung durch die großen Forschungsgemeinschaften erfordert.



*Dr. med.
Jan Wehkamp*



*Dr. med.
Klaus Feller mann*

*Dr. med. Jan Wehkamp
(E-Mail: Jan.Wehkamp@ikp-stuttgart.de) forscht am
Dr. Margarete Fischer-Bosch – Institut für Klinische
Pharmakologie, Stuttgart, zum Thema „Defensine“,
wie auch*

*Dr. med. Klaus Feller mann, Oberarzt in der Abteilung
„Gastroenterologie/Hepatologie/Endokrinologie“
des Zentrums für Innere Medizin am Robert Bosch
Krankenhaus Stuttgart.*

E-Mail: klaus.fellermann@rbk.de