

ForZebRA – ein neuer Forschungsverbund für zellbasierte Therapieverfahren bei degenerativen Erkrankungen im Alter

Franz Jakob, Matthias Schieker, Eckhard Wolf, Peter Bartenstein, Sabine Ott und Wolf Mutschler

Einleitung

Regenerative Medizin ist ein Feld lebhafter Forschungstätigkeiten und der Entwicklung neuer Therapieverfahren. Im Unterschied zu früheren konventionellen Therapieverfahren, die sich häufig mit der medikamentösen und/oder operativen Verbesserung bestehender Gewebe und Strukturen beschäftigten, möchte die regenerative Medizin eine zellbasierte Erneuerung und Reparatur geschädigter Gewebe erreichen. Dies ist im Erfolgsfall mit einer Neubildung von Gewebe verknüpft, die Hoffnung weckt, degenerative Erkrankungen und Funktionsstörungen zu überkommen. In den letzten Jahren ist es weltweit und auch in Deutschland zur Gründung und Förderung entsprechender Forschungsverbände gekommen, die in verschiedensten Feldern regenerative Medizin bearbeiten. Das Spektrum reicht von zellbasierter Therapie des Diabetes mellitus durch Regeneration der Insulin produzierenden Inselzellen bis hin zur zellbasierten Therapie schlechter heilender Knochenbrüche oder degenerierter Sehnen und Gelenke. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) haben in diesem Zusammenhang Förderungsmöglichkeiten für regenerative Zentren in der Bundesrepublik Deutschland ausgeschrieben. In der Folge wurden die Universitäten Berlin, Dresden, Hannover und Leipzig zur Förderung der Infrastruktur und der Forschung mit Fördergeldern ausgestattet. Ein bayerisches Forscherkonsortium der Universitäten München und Würzburg hat sich jetzt zusammengeschlossen, um ein Netzwerk Regenerative Medizin in Bayern zu etablieren. Das Besondere an diesem Forschungsverbund ist, dass er sich mit den speziellen Verhältnissen der Regeneration im alternden Organismus befasst. Das große Überthema sind muskuloskeletale Erkrankungen und Verletzungen, die bei unserer steigenden Lebenserwartung mit Sicherheit eine zunehmende Rolle spielen werden.

Gesundheitspolitischer Hintergrund

Muskuloskeletale Erkrankungen und Verletzungen verbrauchen etwa 16% der direkten Krankheitskosten, was einem Absolutbetrag von 35 Milliarden Euro jährlich entspricht, wenn man von direkten Krankheitskosten von etwa 224 Milliarden Euro für die gesamte Bundesrepublik ausgeht. Damit liegen sie, zusammen mit den Herz-Kreislauf-Erkrankungen, an erster Stelle. Muskuloskeletale Erkrankungen und Verletzungen verursachen mehr als 40 % aller Arbeitsunfähigkeitstage, 42 % aller Rehabilitationsleistungen und 25% aller frühzeitigen Berentungen in Deutschland.

Trotz der abnehmenden Bevölkerungszahlen ist aufgrund der steigenden Lebenserwartung somit davon auszugehen, dass in Zukunft solche Erkrankungen noch wichtiger werden.

Die Prävention und die Regeneration bei muskuloskeletalen Erkrankungen und Verletzungen bietet die Chance, die Mobilität älterer Menschen möglichst lange zu erhalten und ihre Fähigkeit zur Eigenversorgung zu stützen, damit die Solidargemeinschaft zu einem möglichst späten Zeitpunkt mit der Unterstützungsbedürftigkeit älterer Menschen konfrontiert wird. Die Projektion der Häufigkeit von muskuloskeletalen Erkrankungen und Verletzungen lässt sich nach dem gegenwärtigen Stand relativ gut abschätzen, so ist weltweit damit zu rechnen, dass sich die Anzahl an osteoporotischen Frakturen bis 2050 verdoppelt.

Derzeitige chirurgische und konservative Behandlungskonzepte sind bei den degenerativen muskuloskeletalen Erkrankungen und Verletzungen nur schadensbegrenzend und können in begrenztem Ausmaß eine körpereigene Reparatur induzieren. Die molekularen und zellulären Mechanismen, die zur muskuloskeletalen Degeneration führen, sind wenig bekannt, so dass gezielte Gegenmaßnahmen noch nicht verfügbar sind. Dies trifft für die Prävention auch in jüngem Alter zu und gilt umso mehr, wenn mit zunehmendem Alter Begleiterkran-

kungen vorliegen und degenerative Prozesse, die altersassoziiert auftreten, eine Regeneration erschweren.

Technologieplattformen von der Stammzellbiologie bis zum Großtiermodell

Zur Erforschung der molekularen Ursachen degenerativer Erkrankungen ist es erforderlich, in die Grundlagenforschung zu investieren und parallel dazu Modelle zu entwickeln, in denen unter adäquaten biomechanischen Bedingungen therapeutische Strategien überprüft werden können. Das Forschungskonsortium möchte 3 Hauptplattformen etablieren, die über das jetzt geförderte Forschungsthema hinaus ein Kompetenznetzwerk in Bayern entstehen lassen. Im Teilprojekt 1 wird eine Plattform für „(Stamm-)Zellbiologie und Genomik“ entstehen, die sich mit der Genexpression in mesenchymalen Stammzellen und im Lauf ihrer Differenzierung befasst, mit besonderer Aufmerksamkeit auf Unterschiede im Genexpressionsmuster bei jungen und alten Menschen. Aus der Charakterisierung der Stammzelldefekte bei Degeneration und im hohen Alter ergeben sich sowohl die Ursachenforschung in Bezug auf intrinsische zelleigene Defekte und organismisch getriggerte Defekte als auch die Charakterisierung erster therapeutischer Zielmoleküle, die zur Adressierung von Gegenmaßnahmen für Alterung und Degeneration geeignet erscheinen. Die Erkenntnisse aus dieser ersten Plattform fließen ein in ein zweites Teilprojekt, das eine Plattform „Zellapplikation und Zelltracking“ entwickelt. Hier werden neue molekulare und auch funktionelle Bildgebungsverfahren entwickelt, die es erlauben, die im präklinischen Tierversuch erprobten therapeutischen Strategien bezüglich der beteiligten Zellen, der Vitalität und letztlich auch der Funktion des neu entstandenen Gewebes zu verfolgen. Diese Plattform arbeitet zunächst vorwiegend mit Kleintiermodellen und erarbeitet erste Erkenntnisse zum Proof of Principle der neu gefundenen therapeutischen Applikationen. Die gesamte

Erkenntnis fließt dann ein in die dritte Plattform „Großtiermodelle“, die besonders bei muskuloskelettalen Erkrankungen wichtig sind, da nur sie geeignete biomechanische Bedingungen simulieren, wie sie beim Menschen vorliegen. Hier greift die in München vorhandene Kompetenz in der Entwicklung genetisch veränderte Großtiermodelle, wie z.B. dem Schwein. Die Münchener Arbeitsgruppe um Prof. Eckhard Wolf und Prof. Wolf Mutschler arbeiten bereits an transgenen Tiermodellen für die Osteoporose. Im Zusammenhang mit dem jetzt gegründeten Verbundprojekt sollen Tiere entwickelt werden, die einen Immundefekt haben und somit dazu geeignet sind, menschliche zellbasierte Konstrukte ohne Abstoßungsreaktion zu erproben.

Hauptthema Regeneration von Sehnen und Knochen

Inhaltlich befasst sich der Verbund vorwiegend mit der Charakterisierung der Degeneration von Sehnen und Gelenken sowie mit dem Knochenersatz bei schlecht heilenden Knochenbrüchen im hohen Alter. Sehnenheilung und -regeneration erfordert gute Kenntnisse über die Differenzierungswege von der mesenchymalen Stammzelle zum Tenozyten. Die Defekte bei der Sehnenregeneration und bei degenerativen Erkrankungen im höheren Alter werden durch Analyse der Biologie von mesenchymalen Stammzellen betroffener Patienten erfasst, um neue therapeutische Strategien für die Geweberegeneration zu entwickeln. Die hierfür geeigneten Wachstums- und Differenzierungsfaktoren werden in Kleintiermodellen erprobt. Grundlagenprojekte und Tissue Engineering sowie die molekulare Bildgebung unterstützen sich hier wechselseitig in der Identifikation und Erprobung neuer Targets. Regelmäßige Kleinkonferenzen zwischen den Partnern werden die Wege in die Translation verkürzen und die klinischen Anforderungen an die Entwicklung neuer Therapeutika bereits im frühen Entwicklungsstadium rückkoppeln.

Ein Teil des jetzt gegründeten Verbunds ist bereits in einer Kooperation innerhalb einer DFG-geförderten Forschergruppe der Universitäten Hamburg, München, Ulm und Würzburg zur Frage der Frak-



Abbildung 1. Das Konsortium anlässlich des Kick-Off-Meetings am 29.10.2008 in München.

tureheilung bei Osteoporose. Insofern ist der jetzt neu geschaffene Bayerische Verbund komplementär zu bereits bestehenden Strukturen und unterstützt den Ausbau der beschriebenen Kompetenzplattformen (ausgewählte Literaturstellen s. unten).

Enge Interaktion mit der forschenden Industrie als wichtige Voraussetzung einer translationalen Forschung

Das Prinzip der Forschungsförderung in der Bayerischen Forschungsförderung besteht in der Schaffung von Forschungsverbänden, die sehr eng mit Industrieunternehmen zusammenarbeiten, um die translationale Umsetzung neuer Erkenntnisse zu beschleunigen. So ist die Hälfte des Gesamtfinanzvolumens von etwa 3,5 Millionen Euro gegenfinanziert durch Leistungen von Industriepartnern, die in den verschiedenen Plattformen Know-how, Finanzmittel und Sachmittel zur Verfügung stellen. Es handelt sich um eine Liste von Industriepartnern, die aus forschender Pharmaindustrie, Industrie für bildgebende Verfahren, Partnern aus der Materialforschung und der molekularen Tierzucht bestehen (eine Liste der beteiligten Partner findet sich am Ende dieses Beitrags). Die zu erwartenden Erkenntnisse aus den verschiedenen

Teilprojekten sind vielfältig. Zum einen ist anzunehmen, dass aus den grundlagenassoziierten Projekten der Forschung über Stammzellbiologie neue medikamentöse Targets sowohl für die systemische Behandlung degenerativer Erkrankungen als auch für die Ex-vivo-Verfahren bei Regenerationsstrategien im Tissue Engineering identifiziert werden. Solche Erkenntnisse sind sowohl für die forschende Pharmaindustrie von Interesse als auch für die Hersteller von Medien, Seren und Wachstumsfaktoren zur Herstellung von Tissue-Engineering-Konstrukten, ebenso wie von künstlichen Scaffolds für die Unterstützung der Gewebeerneuerung. Technologien zur Verfolgung von Einzelzellen oder Zellpopulationen (Cell Tracking), der Entstehung neuer Gewebe und zur Untersuchung ihrer Vitalität und ihres Stoffwechsels sind bei verschiedensten bildgebenden Verfahrenstechniken hochaktuelle Forschungsbereiche.

Von der Magnetresonanztomographie bis hin zur radioaktiv unterstützten Darstellung von Zell- und Gewebemetabolismus eröffnet sich hier ein weites Feld, das weltweit im Moment unter den Stichworten „molekulare Bildgebung“ und „funktionelle Bildgebung“ eine kompetitive Forschungsaktivität erlebt. Besonders bei muskuloskelettalen Er-

krankungen ist es hier ebenfalls unabdingbar, dass für die klinische Entwicklung bestimmte Verfahren in Großtiermodellen erprobt werden, um die biomechanischen Bedingungen beim Menschen möglichst gut zu simulieren. Die Münchener Arbeitsgruppe wird transgene Tiermodelle entwickeln und hier Erkenntnisse gewinnen, die sowohl für die molekulare Tierzucht von hohem Erkenntniswert sind als auch in der Anwendung bei der präklinischen Testung zellbasierter therapeutischer Strategien. Die neuen Technologien werden ihrerseits zu Firmen-Ausgründungen führen und so neben dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn auch einen wichtigen Wirtschaftsfaktor darstellen.

Zeitlicher Ablauf und Perspektive

Das Kick-off-Meeting des Konsortiums fand am 29.10.2008 in München statt. Die Förderung ist für 3 Jahre vorgesehen, es ist jedoch davon auszugehen, dass die hier geschaffenen Plattformen über den Förderungszeitraum hinaus ein interaktives Netzwerk bilden werden, das Modellcharakter haben kann. Regelmäßige Treffen zur Diskussion und Publikationen zum Stand der Dinge werden die wissenschaftliche Gemeinschaft über die weiteren Entwicklungen auf dem Laufenden halten.

Ausgewählte Literatur

1. Bocker W, Rossmann O, Docheva D, Malterer G, Mutschler W, Schieker M. Quantitative polymerase chain reaction as a reliable method to determine functional lentiviral titer after ex vivo gene transfer in human mesenchymal stem cells. *J Gene Med* 2007; 9(7): 585-95
2. Boker W, Yin Z, Drosse I, Haasters F, Rossmann O, Wierer M, et al. Introducing a single-cell-derived human mesenchymal stem cell line expressing hTERT after lentiviral gene transfer. *J Cell Mol Med* 2008; 12(4): 1347-59
3. Docheva D, Padula D, Popov C, Mutschler W, Clausen-Schaumann H, Schieker M. Researching into the cellular shape, volume and elasticity of mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteosarcoma cells by atomic force microscopy. *J Cell Mol Med* 2008; 12(2): 537-52
4. Ebert R, Ulmer M, Zeck S, Meissner-Weigl J, Schneider D, Stopper H, et al. Selenium supplementation restores the antioxidative capacity and prevents cell damage in bone marrow stromal cells in vitro. *Stem Cells* 2006; 24(5): 1226-35
5. Helisch A, Schirmacher E, Thews O, Schirmacher R, Buchholz HG, Dillenburg W, et al. Demonstration of pulmonary beta2-adrenergic receptor binding in vivo with [18F]fluoroethyl-fenoterol in a guinea pig model. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 32(11): 1324-8
6. Hofmann A, Kessler B, Ewerling S, Weppert M, Vogg B, Ludwig H, et al. Efficient transgenesis in farm animals by lentiviral vectors. *EMBO Rep* 2003; 4(11): 1054-60
7. Hofmann A, Zakhartchenko V, Weppert M, Sebald H, Wenigerkind H, Brem G, et al. Generation of transgenic cattle by lentiviral gene transfer into oocytes. *Biol Reprod* 2004; 71(2): 405-9
8. Kumakura Y, Cumming P, Vernaleken I, Buchholz HG, Siessmeier T, Heinz A, et al. Elevated [18F]fluorodopamine turnover in brain of patients with schizophrenia: an [18F]fluorodopa/positron emission tomography study. *J Neurosci* 2007; 27(30): 8080-7
9. Li YM, Schilling T, Benisch P, Zeck S, Meissner-Weigl J, Schneider D, et al. Effects of high glucose on mesenchymal stem cell proliferation and differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363(1): 209-15
10. Schilling T, Kuffner R, Klein-Hitpass L, Zimmer R, Jakob F, Schütze N. Microarray analyses of transdifferentiated mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem* 2008; 103(2): 413-33
11. Siessmeier T, Zhou Y, Buchholz HG, Landvogt C, Vernaleken I, Piel M, et al. Parametric mapping of binding in human brain of D2 receptor ligands of different affinities. *J Nucl Med* 2005; 46(6): 964-72
12. Wolf E, Schernthaner W, Zakhartchenko V, Prella K, Stojkovic M, Brem G. Transgenic technology in farm animals--progress and perspectives. *Exp Physiol* 2000; 85(6): 615-25

Wissenschaftliche Partner

- Prof. Dr. P. Augat, BG Unfallchirurgie, Murnau und Paracelsus Universität Salzburg
- Prof. Dr. P. Bartenstein, Dr. F. J. Gildehaus, Dipl.-Biol. Erika Wagner, Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin - Innenstadt und Großhadern, Klinikum der LMU München
- Prof. Dr. W. Frieß, Department Pharmazie, Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie; LMU München
- Prof. Dr. F. Jakob, Dr. A. Steinert, PD Dr. U. Nöth, Dr. L. Seefried, Dr. R. Ebert, Orthopädisches Zentrum für Muskuloskeletale Forschung, Orthopädische Klinik im König-Ludwig-Haus, Universität Würzburg
- Prof. Dr. P. Jakob, Dr. D. Haddad, Prof. Dr. A. Haase, Forschungszentrum Magnet-Resonanz-Bayern e.V. (MRB) und Experimentelle Physik 5, Physikalisches Institut, Universität Würzburg
- Prof. Dr. W. Mutschler, PD Dr. M. Schieker, Dr. W. Böcker, Dr. D. Docheva, I. Drosse (TÄ), Dr. E. Volkmer, Dr. M. Stengele, Experimentelle Chirurgie und Regenerative Medizin (Experimed), Chirurgische Klinik und Poliklinik - Innenstadt, Klinikum der LMU München
- Prof. Dr. A. Schnieke, Lehrstuhl für Biotechnologie der Tiere, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, TU München
- Prof. Dr. E. Wolf, Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, und Laboratorium für funktionale Genomanalyse (LAFUGA), Genzentrum der LMU München

Assoziierte Partnerschaft

- Prof. Dr. A. Ignatius, Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik, Universität Ulm

Industriepartner

- Arthrex GmbH, Karlsfeld (Dr. M. Kowarsch)
- BIONORICA AG, Neumarkt (Dr. J. Haunschild)
- BioStemTec, München (Dr. V. Luibl)
- Coriolis Pharma, München (Dr. C. Pompe)
- LivImplant, München (Dr. M. Stengele)
- MWM Biomodels, Tiefenbach (Dr. C. Simmet)
- Novartis Deutschland GmbH, Nürnberg (M. Kressel)
- PolyMaterials AG, Kaufbeuren (Dr. H. Wiese)
- PreSens GmbH, Regensburg (Dipl. Chem. A. Stangelmayer)
- Rapid Biomedical, Rimpar (Dr. Titus Lanz)
- Siemens Medical Solutions AG, Erlangen (Dr. W. Neidlinger)
- Tutogen Medical GmbH, Neunkirchen am Brand (Dr. A. Wilhelmi, Dr. K. Koschatzky)

Kontaktadresse:

ForZebRA-Geschäftsstelle
 Dr. rer. nat. Sabine Ott
 Chirurgische Klinik und Poliklinik Innenstadt,
 Klinikum der Universität München
 Nußbaumstraße 20
 80336 München
 Tel. +49 (0) 89-51 60-75 57
 Fax +49 (0) 89-51 60-54 82
 ForZebRA-Geschäftsstelle@
 med.uni-muenchen.de