



Özge Kayisoglu, Nicolas Schlegel und Sina Bartfeld

Die zelluläre Grenzschicht im Magen-Darm-Trakt und ihre Funktion in der Immunabwehr: Organoide als Modell des gastrointestinalen Epithels

Zusammengefasst und aus dem Englischen übersetzt von Lilian Marx-Stölting

In:

Sina Bartfeld / Hannah Schickl / Cantas Alev / Bon-Kyoung Koo / Anja Pichl / Angela Osterheider / Lilian Marx-Stölting (Hrsg.): Organoide : ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft. – ISBN: 978-3-8487-6711-3. – Baden-Baden: Nomos, 2020 (Forschungsberichte / Interdisziplinäre Arbeitsgruppen der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften ; 43)
S. 138-148

Persistent Identifier: urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-34348

Die vorliegende Datei wird Ihnen von der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften unter einer Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivateWorks 4.0 International (cc by-nc-nd 4.0) Licence zur Verfügung gestellt.



3.8 Die zelluläre Grenzschicht im Magen-Darm-Trakt und ihre Funktion in der Immunabwehr: Organoide als Modell des gastrointestinalen Epithels⁴¹

Zusammengefasst und aus dem Englischen übersetzt von Lilian Marx-Stöltzing

Der menschliche Körper kommt ständig in Berührung mit Mikroorganismen. Dabei müssen die Schnittstellen zwischen Körper und Umwelt einerseits eine gute Zusammenarbeit mit den Kommensalen⁴² gewährleisten, andererseits gleichzeitig eine Barrierefunktion hinsichtlich eindringender Krankheitserreger erfüllen. Die Deckgewebe (Epithelien), welche die Grenzen des Körpers auskleiden, enthalten eine Vielzahl verschiedener angeborener Immunsensoren, wie etwa bestimmte Rezeptoren, die Entzündungsreaktionen auslösen, wenn Mikroorganismen in den Körper eindringen. Eine Fehlfunktion dieses komplizierten Systems kann zu akuten Erkrankungen wie Gastritis, Gastroenteritis oder chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) mit den Unterformen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa oder auch nekrotisierender Enterokolitis führen. Die Komplexität der diesen gastrointestinalen (Magen und Darm betreffenden) Erkrankungen zugrunde liegenden zellulären Interaktionen, ihre molekularen Grundlagen und ihre Entwicklung sind jedoch noch wenig verstanden. In den letzten Jahren wurden Organoide aus intestinalen Stammzellen als vielversprechendes neues Modell entwickelt, um biologische Prozesse und die Entstehung von Krankheiten besser zu verstehen. Darüber hinaus ermöglichen sie die Erforschung der angeborenen

41 Dieser Beitrag ist eine deutsche Zusammenfassung des Review-Artikels „Gastrointestinal epithelial innate immunity – regionalization and organoids as new model“ von Özge Kayisoglu, Nicolas Schlegel und Sina Bartfeld, der 2020 im *Journal of Molecular Medicine* erschienen ist und eine umfangreiche Darstellung des wissenschaftlichen Sachstands sowie der aktuellen Literatur zum Thema (Stand Sommer 2020) bietet.

42 Als Kommensalen bezeichnet man Organismen, die sich von Nahrungsrückständen eines Wirtsorganismus ernähren, ohne ihn dabei zu schädigen. Dass er den Wirt nicht schädigt, unterscheidet ihn vom Parasiten. Der menschliche Darm wird von einer Vielzahl von Bakterien besiedelt, die dort als Kommensalen oder Symbionten (in Wechselbeziehung stehenden Organismen) leben. Von Symbionten spricht man, wenn die eingegangene Beziehung für beide Partner von Vorteil ist.

epithelialen Immunität *in vitro*. Im Fokus dieses Kapitels steht die gastrointestinale epitheliale Barriere und deren Rolle für die Immunfunktion und die Entwicklung der angeborenen Immunität.

3.8.1 Einführung

Gastrointestinale entzündliche Erkrankungen weisen sehr unterschiedliche und nur unvollständig verstandene Entstehungsmechanismen und Verläufe auf, haben jedoch gemeinsam, dass die Schnittstelle zwischen Umwelt und Körper erheblich gestört ist. Unter normalen Bedingungen wird diese Schnittstelle vom Epithel gebildet, das nicht nur als physiologische Barriere, sondern auch als zentraler Regulator der angeborenen Immunantwort fungiert. Es wird vermutet, dass Fehlfunktionen des Epithels eine wichtige Rolle bei der Entstehung der meisten gastrointestinalen Störungen spielen, auch wenn ihr genauer Beitrag bisher schwer zu bestimmen ist. Allerdings gibt es eine anhaltende Debatte darüber, ob Veränderungen des Darmepithels Ursache oder Folge der oben genannten Erkrankungen sind. Dies gilt besonders für die Rolle der angeborenen Immunantwort. Ein wesentliches Hindernis für ein besseres Verständnis des krankheitsspezifischen Beitrags der Darmepithelzellen war bislang der Mangel an geeigneten experimentellen Modellen. Mit den jüngsten Entwicklungen auf dem Gebiet der Organoidtechnologie wurde jedoch ein wichtiger Schritt getan, um die spezifische Rolle der Beteiligung der Epithelien bei gastrointestinalen Erkrankungen besser zu verstehen, da dieses Modellsystem die Erzeugung primärer Epithelkulturen aus Darmepithel-Stammzellen ermöglicht. Im Folgenden werden Erkenntnisse aus Studien mit Organoiden und deren Potenzial für die Untersuchung der epithelialen angeborenen Immunität diskutiert.

3.8.2 Die gastrointestinale epitheliale angeborene Immunbarriere

Der Gastrointestinaltrakt (GI-Trakt) reicht von der Mundhöhle über die Speiseröhre, den Magen, den Dünndarm und den Dickdarm bis hin zum After und dient in erster Linie der Verdauung der Nahrung. Der Dünndarm und der Dickdarm haben eine Fläche von etwa 30-40 m²; diese stellt im Vergleich zur Lunge mit 50 m² die zweitgrößte Oberfläche des menschlichen Körpers dar. Der GI-Trakt ist von einer Vielzahl von Kommensalen, Symbionten und gelegentlich auch Krankheitserregern besiedelt. Die mikrobielle Besiedlung steigt dabei im räumlichen Verlauf des GI-Traktes an, mit weniger als 10³ Mikroben/ml im Magen bis hin zu 10¹¹-10¹² Mikroben/ml im Dickdarm. Das Mikrobiom (die Gesamtheit der den Körper besiedelnden Mikroorganismen) ist

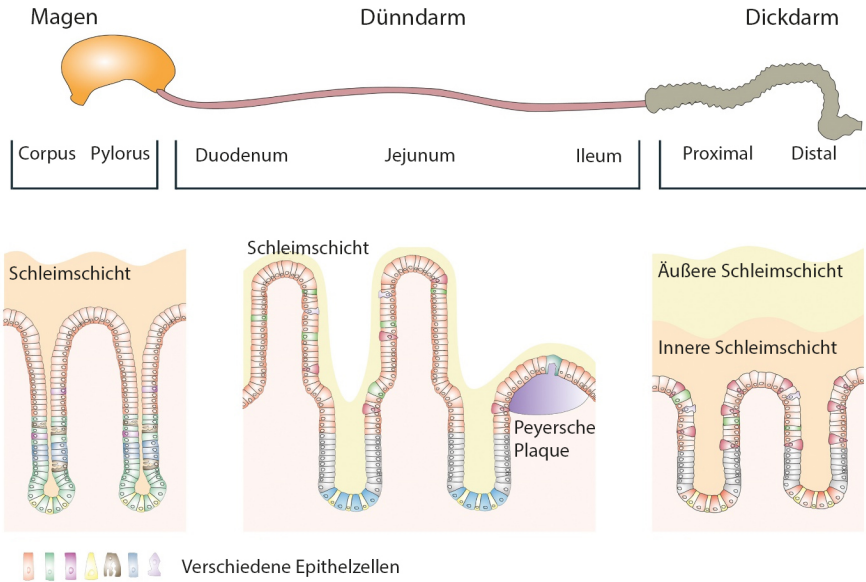
wesentlich an einer Vielzahl von Prozessen beteiligt, die für die Aufrechterhaltung der Funktionsfähigkeit des Darms (Homöostase) wichtig sind. Allerdings kann das Einwandern von Bakterien aus dem Darminnenraum (dem Lumen) über die epitheliale Barriere in den Körper zu einer tödlichen Entzündungsreaktion im gesamten Körper führen.

Daher vermitteln verschiedene Systeme zwischen dem für Verdauung und Ernährung notwendigen Kontakt mit dem Inhalt des Darms und der Erkennung und Bekämpfung von Krankheitserregern. Diese Doppelfunktion spiegelt sich in der Gewebearchitektur und Zelldynamik der Epithelschicht wider, die als einschichtige zelluläre Auskleidung den Körper von der Darmflora trennt (siehe Abbildung 1). Epithelzellen bilden durch ihre enge Verzahnung und die von ihnen abgesonderte Schleimschicht eine physische Barriere, geben chemische Abwehrproteine ab und sind mit angeborenen Immunrezeptoren ausgestattet, um Mikroorganismen zu erkennen. Dadurch können sie eindringende Krankheitserreger wahrnehmen und in der Folge spezialisierte Immunzellen rekrutieren, die bei der Bekämpfung der Infektion helfen.

Die Wände des Magens und des Darms sind mit zahlreichen kleinen flaschenförmigen Einstülpungen versehen. Die Epithelien sind eine dünne Schicht spezialisierter Zellen, die die gesamte Wand einschließlich der Einstülpungen auskleiden. Die Zellen des Epithels, die nahe am Lumen des Magen-Darm-Traktes sind, müssen die Nährstoffe aus dem Darminnenraum aufnehmen, sind dadurch aber einer möglichen Infektion durch Krankheitserreger ausgesetzt. Der Körper wirkt dieser Gefahr entgegen, indem er diese Oberflächenzellen ständig erneuert. Der dadurch entstehende Bedarf an neuen Zellen wird durch ständige Teilung von adulten Stammzellen gedeckt, die wiederum in den Einstülpungen liegen und dort geschützt sind vor Kontakt mit dem Inhalt des Magen-Darm-Traktes.

Die Interaktion zwischen der Darmflora und den aufgenommenen Krankheitserregern mit Epithelzellen wird durch verschiedene Rezeptoren (Mustererkennungsrezeptoren, sogenannte PRRs) vermittelt, die eine Schlüsselrolle bei der Erkennung von Mikroben-assoziierten molekularen Mustern (MAMPs) spielen. Sie erkennen zwar unterschiedliche Muster, teilen aber auch einen gemeinsamen zentralen Signalweg (den sogenannten NF- κ B-Signalweg). Nach der PRR-Aktivierung in Epithelzellen induzieren nachgeschaltete Signalkaskaden die Expression verschiedener zellulärer Botenstoffe (Zytokine und Chemokine), um die spezialisierten Immunzellen des angeborenen und des adaptiven Immunsystems zu aktivieren und damit eine Entzündungsreaktion auszulösen, wodurch die Infektionen bekämpft werden können. Man geht davon aus, dass die PRR-Signalübertragung nicht nur einen wesentlichen Einfluss auf die Patho-

Abbildung 1: Überblick über das gastrointestinale Epithel



Die beiden Hauptregionen des Magens sind Korpus und Antrum (Pylorus). Das Mageneithel ist aus flaschenartigen Einstülpungen (Magendrüsen) aufgebaut. Das Epithel besteht aus schleimproduzierenden Gruben- und Drüsenzellen, Hauptzellen, die das Verdauungsenzym Pepsinogen absondern, Parietalzellen zur Säureproduktion, endokrinen Zellen, Bürschelzellen und Stammzellen. Der Dünndarm wird in drei Hauptteile unterteilt: den Zwölffingerdarm (Duodenum), den Leerdarm (Jejunum) und den Krummdarm (Ileum). Das Dünndarmepithel ist in Krypten und Zotten organisiert, während der Dickdarm nur Krypten mit einer flachen Oberfläche besitzt. Beide Organe verfügen über resorptive Enterozyten und sekretorische Zellen, wie z.B. schleimproduzierende Kelchzellen, hormonproduzierende enteroendokrine Zellen und Bürschelzellen. Darüber hinaus enthält das Dünndarmepithel auch Paneth-Zellen, die antibakterielle Peptide produzieren, sowie spezialisierte Mikrofaltzellen (M-Zellen) auf den Peyerschen Plaques, die Wechselwirkungen zwischen den Mikroorganismen und dem Immunsystem ermöglichen.

generkennung, sondern auch auf die Erhaltung der Funktionsfähigkeit des Gewebes (Gewebehomöostase) und Entzündungskrankheiten hat.

3.8.3 Organoide bieten die Möglichkeit, die epitheliale PRR-Funktion direkt zu untersuchen

Bei der Erforschung der PRR-Signale in Epithelzellen besteht eine Schwierigkeit darin, epitheliale Signale von denen der infiltrierenden Immunzellen zu unterscheiden und reines Epithel zu gewinnen. Mit Organoiden, die aus Darm-Epithelzellen gewonnen

werden, steht nun ein reduktionistisches Versuchsmodell zur Verfügung, das Untersuchungen der angeborenen Immunantwort in reinen Epithelzellen ermöglicht.

Organoide, definiert als dreidimensionale Zellkulturen aus Stammzellen, die selbstorganisierend sind und einen Teil der Funktion des ursprünglichen Organs besitzen, können entweder aus im Gewebe befindlichen adulten Stammzellen oder aus pluripotenten Stammzellen gezüchtet werden (siehe Einleitung, Kap. 2.1). Wichtig ist, dass die Zellen langfristig – offenbar unbegrenzt – kultiviert werden können. Darmorganotide aus Mauszellen sind der Prototyp von Organoiden, die aus adulten Stammzellen gewonnen werden. Sie enthalten sowohl Stammzellen als auch differenzierte Zellen. Darüber hinaus organisieren sich die Zellen selbst in verschiedene Bereiche, so wie es auch im Gewebe ist: die Stamm- und Vorläuferzellen sind in einem Bereich äquivalent den Einstülpungen des Gewebes und die differenzierten Zellen, die sonst der Nährstoffaufnahme dienen wie die Enterozyten, sind in einem anderen Bereich äquivalent der Oberfläche des Gewebes, das in das Lumen des Darms reicht. Mithilfe von Wachstumsfaktoren oder Inhibitoren (Faktoren, die bestimmte Entwicklungspfade blockieren) können die Zellen auch zu bestimmten spezialisierten Zelllinien entwickelt werden. So kann während der Untersuchung von Organoiden der spezifische Beitrag von Epithelzellen in den Blick genommen werden. In Kokultivierungsexperimenten können zudem Reaktionen auf oder Interaktionen mit spezifischen Faktoren wie Entzündungsreizen, Mikroorganismen oder Immunzellen untersucht werden, um das komplizierte Zusammenspiel von Darmflora, Krankheitserregern, Immunzellen und Epithelzellen sichtbar zu machen.

3.8.4 Angeborene Immunsignale bei Aufrechterhaltung der Homöostase und Krankheit

Es ist schon lange bekannt, dass durch PRRs Pathogene erkannt werden können. Es ist aber ein eher neueres Konzept, dass dies nicht die einzige Funktion der PRRs ist, sondern dass PRR-vermittelte Signale auch unter normalen Bedingungen eine ganz wichtige Rolle spielen: Die Darmbakterien werden nicht nur toleriert, weil sie die Nährstoffverdauung unterstützen, sondern sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase und der korrekten Barrierefunktion des Epithels. Die genauen Mechanismen, die dabei wichtig sind, sind jedoch noch nicht verstanden. Die derzeitigen Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass eine andauernde Stimulation auf niedrigem Niveau wichtig ist, um die Barriere intakt zu halten. Wie Experimente mit Mäusen zeigten, bei denen man einzelne Gene stillgelegt hat, entsteht nicht sofort eine spontane Entzündungskrankheit, wenn einzelne PRRs ausgeschaltet sind.

Wenn aber ein Gen ausgeschaltet wird, das für ein Protein kodiert, das fast alle PRRs brauchen, um ihre Signale zu übermitteln (MyD88 heißt dieses Protein, es aktiviert den NF- κ B-Signalweg), dann sind diese Mäuse anfälliger für Darmentzündungen und zeigen geringere Funktion der Becherzellen und der Paneth-Zellen, die beide für die Abwehr essenziell sind. Die Aktivierung des NF- κ B-Signalweges ist zusätzlich auch ein wichtiges Überlebenssignal für die Zellen. Werden zentrale Proteine im NF- κ B-Signalweg ausgeschaltet, so sterben Epithelzellen ab und die Barriere wird durchlässig für Bakterien, die dann im Gewebe eine Entzündung auslösen können. Experimente in Organoiden deuten außerdem darauf hin, dass angeborene Immunsignale das Überleben der Stammzellen unterstützt. Insgesamt ergibt sich hieraus die Theorie, dass nur kurzzeitig hohe Konzentrationen von mikrobiellen Molekülen die epitheliale Immunabwehr so aktiviert, dass eine Entzündung zur Abwehr von Pathogenen entsteht. Die niedrige Konzentration von mikrobiellen Molekülen, die im gesunden Darm an die Epithelzellen gelangen, ist hier wichtig für das Überleben der Zellen und die Integrität der Barriere.

3.8.5 Modellierung epithelabhängiger Komponenten von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen durch Organoide

Biobanken von Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen: Der Verlust der Integrität der Barrierefunktion der Darm-Epithelzellen ist ein definierendes Merkmal der CED, und scheint durch ein multifaktorielles Zusammenspiel von genetischer Prädisposition, Umweltfaktoren, Veränderungen der Darmflora und Veränderungen der lokalen und systemischen Immunantwort verursacht zu werden. Die Pathogenese der CED ist jedoch noch nicht vollständig verstanden. Ein besseres Verständnis des epithelspezifischen Beitrags zur Pathophysiologie der CED ist dringend erforderlich, um neue therapeutische Zielstrukturen zu identifizieren, die direkt eine Heilung der Schleimhaut und die Wiederherstellung der intestinalen Epithelbarriere ermöglichen. Humane Organoidmodelle könnten hier eine wichtige Rolle spielen und verschiedene Probleme, die der Einsatz von Mausmodellen mit sich bringt, überwinden.

Um Einblicke in die Epithelpathologie zu gewinnen, haben mehrere Forschungsgruppen lebende Biobanken aufgebaut, in denen Organoide verwahrt werden, die aus der Darmschleimhaut von einzelnen Patienten mit Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn generiert wurden. Dabei wurden Organoide sowohl von entzündeten als auch von nicht entzündeten Regionen der Darmschleimhaut generiert. Zusätzlich haben einige Studien auch zum Vergleich Organoide von Patienten mit anderen Krankheiten, nicht aber entzündlichen Darmerkrankungen herangezogen. Beim Vergleich von

Organoiden aus entzündeten Regionen mit den gesunden Kontrollen zeigte, dass die im Darmepithel festgestellten Transkriptions- und Methylierungsunterschiede zum Teil *in vitro* erhalten blieben. Organoide von Patienten mit Morbus Crohn zeigten Störungen der Zellverbindungen auch unter Kulturbedingungen. Das Muster der Veränderungen wurde jedoch nur auf der Proteinebene, nicht aber auf der mRNA-Ebene⁴³ beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass es dauerhafte Veränderungen in posttranskriptionellen (nach der Übertragung der Information von der DNA auf die RNA) Modifikationen oder Proteinabbau in Organoiden von CED-Patienten gibt. Dies muss jedoch noch im Detail untersucht werden. Was genau die permanenten Veränderungen der Expressionsmuster des entzündeten Epithels auslöst, ist unklar. Obwohl man also vermuten kann, dass einige der permanenten Veränderungen der Darmepithelzellen von Patienten mit CED durch Veränderungen der angeborenen Immunsignale verursacht werden, sind die Beweise dafür derzeit rar. Zudem sind nicht alle Epithelveränderungen, die in den entzündeten Regionen im Darm beobachtet werden, dauerhaft im reinen Epithel vorhanden, was auf maßgebliche Einflüsse aus der lokalen Umgebung hinweist. In Zukunft sollten neue Studien mit komplexeren Organoidmodellen durchgeführt werden, die auch Immunzellen, inflammatorische Zytokinstimulation und Kokulturen mit Mikroorganismen einbeziehen, die diese Hypothese genauer untersuchen.

Regionale Identität im Darm und GI-Organoid: Viele entzündliche Erkrankungen des GI-Traktes sind segmentspezifisch, so wie Colitis ulcerosa, eine Unterform der CED, welche auf den Dickdarm beschränkt ist. Auch Krebs, der im GI-Trakt mit chronischen Entzündungen assoziiert ist, kommt praktisch nur im Magen und im Dickdarm und nur in sehr seltenen Fällen im Dünndarm vor. Die molekulare Grundlage dafür ist bisher unbekannt. Daher ist es wichtig, Unterschiede der verschiedenen Segmente zu analysieren. Der GI-Trakt besteht aus mehreren anatomisch definierten Segmenten mit sehr unterschiedlichen Funktionen. Die Hauptfunktion des Magens ist die Verdauung der Nahrung und die Abtötung der eindringenden Krankheitserreger durch die Magensäure. Die Nährstoffe müssen nicht bis zum Epithel gelangen; daher besitzt er eine schützende Schleimbarriere, die das Epithel nicht nur vor seiner eigenen Säure, sondern auch vor dem Inhalt des Magens schützt. Im Gegensatz dazu ist die Hauptfunktion des Dünndarms nicht nur die weitere Verdauung, sondern auch die

⁴³ Als mRNA (abgekürzt für „messenger RNA“) oder Boten-RNA werden einzelsträngige Ribonukleinsäuren (RNA) bezeichnet, die im Körper als Matrize für die Synthese von Proteinen dienen. Sie werden in einem als Transkription bezeichneten Prozess basierend auf den zu einem Gen gehörenden Informationen der Desoxyribonukleinsäure (DNA) hergestellt.

Aufnahme von Nährstoffen. Dementsprechend hat der Dünndarm eine stark vergrößerte Oberfläche: Die Zotten ragen in das Darmlumen hinein und kommen so in engen Kontakt mit den Nährstoffen. Schließlich hat der Dickdarm die Funktion, Wasser zu resorbieren, und besitzt eine ausgedehnte, dicke und zweischichtige Schleimhülle, um Billionen von kommensalen Bakterien sicher beherbergen zu können. Der Dickdarm hat keine Zotten und die Krypten (mit Epithelzellen ausgekleidete Gruben) sind kleiner als die des Dünndarms. Diese Gewebearchitektur unterstreicht, dass die drei Darmsegmente ganz unterschiedliche Strategien entwickelt haben, um einen sicheren Abstand zwischen der Epithelzellschicht und der Darmflora zu wahren. Die MAMP-Erkennung und Aktivierung von Immunpfaden stellen eine weitere Stufe dieser unterschiedlichen Interaktion mit den Mikroorganismen dar. Neue Untersuchungen zeigen, dass diese Wege der angeborenen Immunantwort ebenfalls hochgradig segmentspezifisch organisiert sind.

Organoide ermöglichen durch Zugabe von Botenstoffen und der anschließenden Analyse der nachgeschalteten Zielgenexpression auch die Prüfung, ob ein bestimmter Signalweg im Epithel funktionsfähig ist. Dabei weisen Organoiden beim Menschen und bei der Maus eine regionenspezifische Funktion auf: Jede Region des GI-Traktes exprimiert ihren spezifischen Satz von angeborenen Immungenen und nimmt damit unterschiedliche Moleküle von Mikroorganismen wahr. Gegenwärtig sind der zugrunde liegende molekulare Mechanismus sowie der evolutionäre Nutzen unklar. Wir vermuten, dass die Unterschiede der physikalischen und chemischen Barrieren, die die Epithelschichten in den verschiedenen Darmsegmenten bedecken, auf die unterschiedlichen Funktionen der jeweiligen Darmsegmente zurückzuführen sind (Verdauung vs. Nährstoffaufnahme vs. Wasserresorption). Es ist denkbar, dass die Schleimschichtdicke die Art der an den jeweiligen Stellen notwendigen PRRs beeinflusst. Es bleibt jedoch ein faszinierendes Rätsel, was genau die Struktur der Organisation der PPR prägt.

Die Entwicklung der regionalen Identität: Regionale Unterschiede im GI-Trakt treten während der Entwicklung auf und bleiben in adulten Stammzellen als Teil der Zellidentität im Erwachsenenalter erhalten. Organoiden ermöglichen die Untersuchung dieser regionalen Unterschiede, ihrer Etablierung während der Embryogenese und ihrer Aufrechterhaltung im Erwachsenenalter. Sie eröffnen nun auch die Möglichkeit, das Ausmaß der regionalen Identität zu studieren, indem Organoiden aus verschiedenen Segmenten des GI-Traktes miteinander verglichen werden. Der Vergleich von Organoiden verschiedener Entwicklungsstadien kann außerdem Aufschluss darüber geben, wie die regionale Spezifität entsteht. Dabei können sowohl Organoiden aus pluripotenten Stammzellen interessant sein als auch Organoiden aus adulten Stammzellen. Bei pluripotenten Stammzellen durchlaufen die Zellen die Entwicklungsstadien durch eine

genau abgestimmte Abfolge von Wachstumsfaktoren, die Entwicklung wird in der Kulturen nachempfunden. Bei adulten Stammzellen werden hingegen Organoiden von Geweben verschiedener Entwicklungsstufen generiert. Für beide ist es generell wichtig, Gewebe von verschiedenen Entwicklungsstufen zum Vergleich heranzuziehen.

Bei einem Vergleich von Organoiden aus adulten Stammzellen von Maus-Embryonen mit Organoiden aus adulten Stammzellen von adulten Mäusen wurde jetzt festgestellt, dass auch die angeborene Immunantwort des Epithels zumindest zum Teil bereits entwicklungsbiologisch festgelegt ist. Der verbleibende Teil der angeborenen Immunantwort des Epithels wird vermutlich durch die Umwelt reguliert, besonders in der Interaktion mit den Mikroorganismen nach der Kolonisierung des sterilen Darms während der Geburt.

Spezialisierte Zellen mit Immunfunktion im Epithel: Es ist schon länger bekannt, dass es bestimmte spezialisierte Epithelzellen gibt, die besondere Funktionen in der Immunerkennung innehaben. Die gezielte Differenzierung von Organoiden ermöglicht nun auch die Untersuchung dieser Zellen in einer Zellkultur.

Zellpolarität und seitenspezifische angeborene Immunantworten: Schließlich ist ebenfalls die Polarität der gastrointestinalen Epithelzellen zu berücksichtigen. Epithelzellen haben eine spezialisierte Oberseite, die dem Darmlumen mit seinen Mikroorganismen zugewandt ist, und eine spezialisierte Unterseite, die dem Gewebe zugewandt ist. Unter Homöostase gelangen MAMPs nur an die Oberseite. Wenn jedoch die epitheliale Barriere durchbrochen wird, können Mikroorganismen auch die untere Seite angreifen. Es wurde daher die Hypothese aufgestellt, dass Epithelzellen nur dann selektiv eine Entzündungsreaktion auslösen, wenn sie an der Unterseite stimuliert werden. Organoiden erlauben nun die direkte funktionelle Prüfung seitenspezifischer Immunantworten, da die zelluläre Polarisierung in Organoiden erhalten bleibt. Die bisherigen Arbeiten dazu zeigen, dass es sowohl Rezeptoren gibt, die mikrobielle Moleküle auf der Seite des Darmlumens wahrnehmen, als auch Rezeptoren, die mikrobielle Moleküle nur speziell auf der Gewebeseite wahrnehmen. Es ist wahrscheinlich, dass Erstere eine Rolle spielen bei der oben erwähnten wichtigen Stimulation im gesunden Zustand zur Erhaltung der Funktionsfähigkeit der Barriere und Letztere eine Rolle bei der Erkennung von eindringenden Pathogenen.

3.8.6 Schlussfolgerungen und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass viele Krankheiten den GI-Trakt betreffend zwar noch unvollständig verstanden werden, dass aber immer mehr Hinweise auf eine entscheidende Rolle des Epithels in der Pathogenese hindeuten – auch wenn dessen

spezifische Rolle unklar ist. Insbesondere der angeborenen Immunantwort und der Barrierefunktion des Magen-Darm-Epithels wird eine wichtige Rolle zugeschrieben.

Das begrenzte Wissen über die angeborene Immunfunktion des gastrointestinalen Epithels wurde auf das Fehlen geeigneter experimenteller Modelle zurückgeführt. Mit der Einführung der Organoidtechnologie wurde ein wichtiger Schritt hin zur Überwindung dieses Problems getan. Organoide, die aus jeder Region des Gastrointestinaltraktes generiert werden können, können das vorhandene Wissen erheblich erweitern. Wie frühere Studien gezeigt haben, bietet die Erzeugung von Organoiden den entscheidenden Vorteil, dass die Reaktionen primärer gastrointestinaler Zellen beobachtet werden können – im Gegensatz zu transformierten Zelllinien, die meist aus gastrointestinalen bösartigen Tumoren erzeugt werden. Eines der faszinierendsten und interessantesten Merkmale von Organoiden ist, dass sie, wenn sie aus adultem Gewebe gewonnen werden, als Teil ihrer Zellidentität spezifische Merkmale des Segments des Gastrointestinaltraktes beibehalten, aus dem sie entstanden sind.

Bei der Untersuchung spezifischer Fragen, z. B. wie das Epithel auf die Umwelt reagieren oder mit ihr interagieren kann, bergen Organoide das Potenzial, sich auf das angeborene Immunsystem des Epithels zu fokussieren. Wie dargelegt, liegen widersprüchliche Daten über die detaillierten Expressionsmuster der beteiligten Komponenten vor. Die Organoidtechnologie hat nun ermöglicht, die differenzielle und segment-spezifische Expression und Funktion von PRRs innerhalb des gastrointestinalen Epithels zu beleuchten. Die allgemeinen funktionellen Auswirkungen für die komplexen Regulationssysteme innerhalb des gesamten Gastrointestinaltraktes sind jedoch noch unklar und müssen in Zukunft untersucht werden. Dazu wird es auch wichtig sein, Organoide zusammen mit Immunzellen, Zellen des Darm-Nervensystems und luminalen Faktoren wie bakteriellen Kokulturen zu kultivieren (siehe Abbildung 2). Die aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Organoide werden insbesondere Einblicke in die Entwicklung und Gestaltung der angeborenen Immunerkennung während der Entwicklung ermöglichen. Die Identifizierung neuer Mechanismen in solchen reduktiven Kulturmodellen wird dann in einem ersten Schritt die Identifizierung regionsspezifischer Mechanismen ermöglichen, gefolgt von der Verifikation in geeigneten In-vivo-Modellen im Kontext eines lebenden Organismus.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass Organoide, die aus Patientengewebe, das von GI-Erkrankungen wie CED betroffen ist, generiert werden, einige der Merkmale beibehalten, die in den entsprechenden Gewebeproben, aus denen sie gewonnen wurden, erkennbar sind. Dies bietet die einzigartige Möglichkeit, den epithel- und krankheits-spezifischen Beitrag zur Pathogenese von gastrointestinalen Erkrankungen weiter zu entschlüsseln – nicht nur bei entzündungsinduzierten Veränderungen, sondern auch

bei Veränderungen bösartiger Erkrankungen. Beides kann sich als spezifischer Beitrag der epithelbedingten angeborenen Immunität erweisen. Der systematische Aufbau von „lebenden Biobanken“ aus Organoiden ist hierfür ein wichtiger Schritt. Als Vision für die Zukunft könnten solche Biobanken bereits bestehende Biobanken ergänzen, die derzeit ausschließlich „tote“ Biomaterialien wie z. B. eingefrorene Proben bereitstellen. Dies wäre ein weiterer wichtiger Schritt nicht nur für die Forschung, sondern auch zur Erleichterung einer individualisierten Diagnostik und Therapie für Patienten.

Abbildung 2: Die Verwendung von Organoiden für die Untersuchung der epithelialen angeborenen Immunität

