

Mikrobiom-Signaturen und ihre funktionale Bedeutung in der Medizin

Dirk Haller¹

Zusammenfassung

Forschungsarbeiten der letzten Jahre unterstützen die Hypothese, dass das Darmmikrobiom einen fundamentalen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen hat. Hochdurchsatzanalysen erlauben es, das intestinale Ökosystem des Menschen, das Darmmikrobiom, auf molekularer Ebene zu beschreiben, wobei die Interpretation der Daten sowohl durch Unterschiede in den methodischen Ansätzen als auch durch die individuelle Variabilität der Probanden (Lebensstil, Ernährung, Erkrankungen, Medikamente) erschwert wird. Unterschiede im Mikrobiom von Patienten und Kontrollgruppen wurden zwar für eine Vielzahl an Erkrankungen gezeigt (oft als Dysbiose definiert), die Kausalität dieser Änderungen mit Blick auf die Erkrankungsgenese ist jedoch nur selten geklärt. Angesichts einer enormen individuellen Heterogenität birgt schon die Auswahl adäquater Kontrollen ein grundlegendes Problem. Prospektive Kohorten und longitudinale Probennahmen sind nur selten etabliert, sodass die therapeutische und diagnostische Nutzung von Mikrobiom-Signaturen noch spekulativ ist. Der Darm mit seiner großen und vielseitigen Oberfläche spielt eine wichtige Rolle zur Entschlüsselung der Kommunikation zwischen komplexen Mikrobiomen und ihrem Wirt. Zur funktionalen Charakterisierung von Mikrobiom-Signaturen sind jedoch geeignete Modellsysteme (z.B. keimfreie Tiermodele) und die Verfügbarkeit von kultivierten Bakterienstämmen nötig. In dem Beitrag werden die möglichen Chancen und die derzeitigen Grenzen für die klinische Nutzbarkeit von Mikrobiom-Signaturen am Beispiel von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen vorgestellt.

Summary

Microbiome signatures and their functional meaning in medicine

Recent studies show that the gut microbiome fundamentally influences human health. High-throughput analyses now make it possible to describe the human intestinal ecosystem, the gut microbiome, at the molecular level. However, differences in the methodical approaches and the natural variation among trial participants in lifestyle, nutrition, health and medication complicate the interpretation of the data. Although for many diseases patients and a healthy control group show defined differences (referred to as dysbiosis), the causal link between changes in the gut microbiome and the origin of disease is seldom established. In view of the large individual variation, even the selection of an adequate control group is a basic problem. Prospective cohort studies and longitudinal samplings are seldom established, reducing the therapeutic and diagnostic utility of microbiome signatures. In order to understand the communication between complex microbiomes and their host, the gut with its large and versatile wall is of great importance. A key will be suitable model systems, namely gnotobiotic animal models, and available cultivated bacterial strains to characterize microbiome signatures functionally. The clinical utility of microbiome signatures is illustrated in this paper using the example of inflammatory bowel disease.

¹ Vom Autor freigegebene, gekürzte Mitschrift des Vortrags.

✉ Prof. Dr. Dirk Haller, Technische Universität München, Lehrstuhl für Ernährung und Immunologie, ZIEL Institute for Food & Health, Gregor-Mendel-Straße 2, 85354 Freising; dirk.haller@tum.de

Einführung

Das Thema Mikrobiome in der Medizin hat sich seit 2006, etwa zeitgleich mit der Verfügbarkeit von Hochdurchsatz-Sequenzierstechnologien, nahezu exponentiell entwickelt (vgl. S. 14, Abb. 3, Beitrag Bauer [2019] in diesem Band). An erster Stelle unter den Publikationen zu Mikrobiomen in der Medizin stehen solche zu Infektionen. Es folgen Veröffentlichungen zu Mikrobiom und Krebs, Adipositas, chronischen Darmentzündungen, Diabetes, Lebererkrankungen, Allergien, Erkrankungen des Gehirns und der koronaren Herzerkrankung. Zum Mikrobiom gibt es insgesamt knapp 44 000 Publikationen, im Vergleich zu beispielsweise 200 000 zu Adipositas. Etwa die Hälfte dieser Veröffentlichungen hat einen Bezug zum Darm; weitere wichtige Themen in der medizinischen Mikrobiomforschung sind die Ernährung, Entzündungen, das Immunsystem und der Wirtsstoffwechsel (Datenerhebung über PubMed Central, www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc).

Bei den genannten Erkrankungen handelt es sich um komplexe Systeme, bei denen die genetische Suszeptibilität, d. h. die Wirtsanfälligkeit, zwar zum Entstehen bestimmter Erkrankungen beiträgt, aber alleine nicht zur Krankheitsauslösung führt. Dem steht mit dem Mikrobiom ein ebenfalls sehr komplexes System gegenüber und letztlich ist wenig darüber bekannt, wie z. B. Umweltfaktoren auf das Mikrobiom im Darm wirken und wo und wie die Interaktionen zwischen Mikrobiom und Darmzellen im Einzelnen ablaufen, wenn am Ende die Balance in Richtung Erkrankung kippt.

Tab. 1. Angaben zum menschlichen Darmtrakt: Anzahl Bakterien/g im Darmtrakt und charakteristische Werte zum Dickdarm.

Verdauungstrakt	
Magen	10^1 – 10^3 Keime/g
Dünndarm	10^2 – 10^7 Keime/g
Dickdarm	10^{11} Keime/g
Dickdarm	
Länge	113–207 cm
Inhalt	58–900 g
Transit	6–16 h (vorderer Teil) bis 24–56 h (hinterer Teil)
pH-Wert	5,8 (vorderer Teil) bis 6,5 (hinterer Teil)
Stuhl	72–470 g

Im folgenden Beitrag stehen drei Themenbereiche im Vordergrund. (1) Variation: Wie viel Variabilität steckt in einem System wie dem Verdauungstrakt und seinem Mikrobiom? (2) Spezifität: Kann ein bestimmtes mikrobielles Ökosystem allein durch die Anwesenheit bestimmter Bakterien jede Erkrankung auslösen oder gibt es klare spezifische Interaktionen, die in die Pathogenese integriert werden? (3) Funktionalität: Jedes Bakterium bzw. jeder Bakterienstamm (strain) ist Träger einer gewissen Funktionalität. Wir setzen diese Funktionalität zum Teil über Probiotika ein. Aber lässt sich die Funktionalität tatsächlich auf Ökosysteme übertragen?

Variabilität

Der Darm ist das am dichtesten besiedelte Organ des Menschen (Tab. 1). Mit bis 10^{11} Keimen/g stellt der Dickdarm sozusagen ein Reservoir an Mikroorganismen dar.² Im Dünndarm liegt die Dichte bei 10^5 – 10^7 Keimen/g, im Magen ist sie mit 10^1 – 10^3 Keimen/g innerhalb des Verdauungstrakts am geringsten. Während des Geburtsprozesses und kurz danach erfolgt die erste bakterielle Besiedlung des vorher keimfreien humanen Verdauungstrakts. Mit zunehmendem Lebensalter steigt dann die Besiedlungsdichte des Darms bis zu ihrer maximalen Höhe an.

Die Mikrobiota des Darms besteht fast ausschließlich aus Vertretern der Bakterienphyla Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria und Actinobacteria. Während im Dickdarm obligate Anaerobier vorherrschen (z. B. *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Ruminococcus*), setzt sich die Dünndarmmikroflora hauptsächlich aus fakultativ anaeroben Bakterien zusammen.

Zu den Unterschieden in Dichte und Zusammensetzung der Bakterien kommt hinzu, dass auch die Anatomie des menschlichen Darmes individuellen Schwankungen unterlegen ist. So kann die Länge des Dickdarms bei erwachsenen

2 Bei Pflanzen fressenden Säugetieren, die nicht zu den Wiederkäuern gehören, wie z. B. Pferden und Nagetieren, stellt im Wesentlichen der stark ausgeprägte Blinddarm (Caecum) dieses Reservoir dar, damit sonst nicht spaltbare organische Nährstoffverbindungen im Futter mit Hilfe von Mikroorganismen umgesetzt werden können.

Menschen zwischen 113 und 207 cm betragen, sein Inhalt zwischen 58 und 900 g und das Stuhlgewicht zwischen 72 und 470 g schwanken. Die Unterschiede im Stuhlgewicht sind größtenteils durch den Anteil des Fermentationsmaterials und der Faserstoffe im Darm bedingt und spiegeln sich entsprechend auch in einer unterschiedlichen Zusammensetzung der Darmbakterien wider.

Das Stuhlgewicht eines Menschen schwankt erheblich über die Zeit. Ein angenommenes durchschnittliches Stuhlgewicht von 177 g (bei täglichen Schwankungen von fast Null bis über 300 g) besteht zu 40–60 % aus Bakterien, etwa 200–400 Spezies. Im Stuhl beträgt das Verhältnis von Bakterien- zu Körperzellen etwa 1 : 1, er besteht jedoch aus 500-mal mehr bakteriellen als menschlichen Genen.

Spezifität

Studien zur chronisch-entzündlichen Darmerkrankung

Die chronisch-entzündliche Darmerkrankung (CED)³ ist ein typisches Beispiel für eine sog. »Industrialisierungs-Erkrankung«, mit der höchsten Inzidenz und Prävalenz in Kanada und Nordeuropa (Molodecky et al. 2012). Aus Zwillingsstudien ist bekannt, dass das Darmmikrobiom bei der CED eine Rolle spielt (Lepage et al. 2011), und aus den genomweiten Assoziationsstudien wurden etwa 240 menschliche Gene bzw. Genloci identifiziert, die mit der Krankheitsentstehung von Morbus Crohn und Colitis ulcerosa assoziiert sind (Jostins et al. 2012, Liu et al. 2015, Ellinghaus et al. 2016). Da viele dieser Gene mit der mikrobiellen Erkennung zu tun haben, bietet sich die CED für Untersuchungen zu Mikroben-Wirt-Interaktionen besonders an.

Veränderungen im Mikrobiom konnten für die CED u. a. mit dem Krankheitsphänotyp, dem familiären Risiko, dem Wohnort und der Art der Behandlung assoziiert werden (Frank et al. 2007,

Willing et al. 2010, Lepage et al. 2011, Joossens et al. 2011, Gevers et al. 2014, Rehman et al. 2016, Lee et al. 2017). Aber gibt es ein spezifisches Mikrobiom, das eine CED auslöst?

Für die CED gibt es mehr als 100 unterschiedliche Tiermodelle. Bei vielen von ihnen sind die Tiere unter gnotobiotischen (keimfreien) Bedingungen weniger schwer oder nicht erkrankt (Hörmannspurger et al. 2015) – ein klarer Hinweis darauf, dass die CED durch Bakterien angefeuert wird. Mittlerweile gibt es drei placebokontrollierte Interventionsstudien zur Fäkaltransplantation bei CED (Moayyedi et al. 2015, Rossen et al. 2015, Paramsothy et al. 2017), von denen zwei positiv waren, mit Response-Raten von etwa 30 %, und eine negativ.

Es wurden viele Unterschiede zwischen Patienten mit einer CED und einer gesunden Kontrollgruppe beschrieben. In einer großen Studie haben Gevers et al. (2014) die Daten von Kindern und Jugendlichen nach der erstmaligen Diagnose von Morbus Crohn ausgewertet. Zwar konnte im Hinblick auf das gesamte Ökosystem (beta-Diversität) weder eine Trennung zwischen den Krankheiten (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, unbestimmte Colitis) noch zwischen gesunden und kranken Kindern gezeigt werden, bricht man die Daten jedoch auf verschiedene taxonomische Ebenen herunter, findet man durchaus Unterschiede in den Häufigkeiten einzelner Bakteriengruppen (Gevers et al. 2014). Aber handelt es sich tatsächlich um einen kausalen Zusammenhang oder lediglich um eine Assoziation? Das scheint selbst für so eine prominente Erkrankung, zu der es schon viele Nachweise gibt, dass Mikroben bei ihrer Entstehung eine Rolle spielen, noch unklar zu sein.

Mikrobiomprofile und Erkrankungen

In einer weiteren Analyse, in die über 2000 Patienten einbezogen wurden, konnten acht Bakterien auf Ebene der Gattung identifiziert werden, deren Häufigkeit sich im Mikrobiom bei Patienten mit Morbus Crohn ändert, unter ihnen ein Vertreter der Gattung *Fusobacterium* (Pascal et al. 2017). Aber lässt sich mit diesen acht Bakterientaxa tatsächlich eindeutig Morbus Crohn identifizieren? Zwei *Fusobacterium*-Subspezies wurden z. B. als spezifische Markerkandidaten für ein Kolonkarzinom beschrieben (Zeller et al. 2014). Wenn man weiß, dass Morbus-Crohn-

3 Chronisch-entzündliche Darmerkrankung (CED; engl. IBD, inflammatory bowel diseases): Sammelbegriff für Krankheitsbilder, die sich durch schubweise rezidivierende oder kontinuierlich auftretende, entzündliche Veränderungen v. a. des Darms auszeichnen. Die wichtigsten CED sind Morbus Crohn und Colitis ulcerosa.

Patienten für das Kolonkarzinom ein erhöhtes Risiko tragen (Kim & Chang 2014), stellt sich die Frage, ob das *Fusobacterium* wirklich Teil einer Morbus-Crohn-Pathogenese ist oder nicht vielleicht der erste Schritt einer kolorektalen Karzinompathogenese. Im Grunde ist unklar, wo sich das *Fusobacterium* in die Pathogenese der Morbus-Crohn-Erkrankung eingliedert.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit wurde festgestellt, dass die Wirksamkeit einer medikamentösen Behandlung von Melanompatienten mit neuen Immun-Checkpoint-Inhibitoren vom Mikrobiom der Patienten abhängt (Gopalakrishnan et al. 2018). Der Umkehrschluss jedoch, dass ein Arzt anhand der 16S-rRNA-Gensequenz des Darmmikrobioms eines Patienten erkennen kann, ob bei diesem Medikament A oder Medikament B besser wirkt, muss in Interventions- und prospektiven Studien erst noch gezeigt werden.

Fäkaltransplantation als Therapieprinzip

Die Fäkaltransplantation (fäkaler Mikrobiomtransfer, FMT) ist als Intervention schon lange bekannt, wir kennen sie schon aus der alten chinesischen Medizin oder von Wüstenvölkern, bei denen Kameldung bei Durchfallerkrankungen verabreicht wird (Rosien & Siebenhaar 2017).

Wirklich placebokontrollierte Studien mit Fäkaltransplantationen gibt es bisher für den Typ-2-Diabetes (Vrieze et al. 2012), für die *Clostridium*-Infektion (Van Nood et al. 2013) und für die Colitis ulcerosa (s.o.). Hier müssen künftig vermehrt Studien durchgeführt werden.

Funktionalität

Eine Antwort auf die Fragen, wie mikrobielle Signale integriert werden und wie Bakterien mit dem Wirt kommunizieren, ist bei den komplexen Erkrankungen in den meisten Fällen sehr schwierig, weil der Wirt eine gewisse genetische Anfälligkeit trägt. Wie oben erwähnt, gibt es für Morbus Crohn und Colitis ulcerosa etwa 240 Suszeptibilitätsgene, wobei für nur wenige dieser Gene eine klinisch relevante Verbindung zu Mikrobiom-Signaturen gezeigt werden konnte. Hier bieten sich Tiermodelle an, mit denen die Wirkung bestimmter Bakterien auf suszeptible und auf nicht suszeptible Tiere getestet werden kann.

Mausmodell:

Die Koch-Postulate in der CED-Pathologie

Die auf ein Mausmodell übertragenen Ansätze von Koch und Henle werden im Beitrag Herp & Stecher-Letsch (2019) in diesem Band (S. 114f.) näher vorgestellt.

Zur Erforschung der CED-Pathologie in einem Tiermodell wurden genetisch anfällige Mäuse ($\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$) verwendet, die mit zunehmendem Alter eine chronische Morbus-Crohn-ähnliche Ileitis entwickeln, eine transmurale, d.h., alle Schichten der Darmwand betreffende, Entzündung im distalen Dünndarm (Schaubeck et al. 2016). Die Wildtyp-Mäuse werden erwartungsgemäß nicht krank, da die CED eine Erkrankung ist, die eine Wirtsanfälligkeit (Suszeptibilität) benötigt. Unter keimfreien, d.h. sterilen Bedingungen bleiben auch die $\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$ -Mäuse frei von Entzündungen. In einem spezifisch pathogenfreien Umfeld zeigen die $\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$ -Mäuse verschiedene Krankheitsausprägungen, von nicht erkrankten (non responders) über leicht erkrankte (low responders) bis hin zu erkrankten (responders) Tieren, die Wildtyp-Mäuse bleiben gesund (Abb. 1a). Aus der Mikrobiotaprofilierung lassen sich über 16S-rRNA-Gensequenzanalysen Cluster bilden, die die verschiedenen Ausprägungen der Ileitis widerspiegeln, wobei sich Wildtyp- und nicht erkrankte $\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$ -Mäuse in der Zusammensetzung ihres mikrobiellen Ökosystems ebenfalls unterscheiden.

Um den kausalen Zusammenhang zwischen dem spezifischen Mikrobiom und der Entwicklung einer Morbus-Crohn-ähnlichen Ileitis in $\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$ -Mäusen zu belegen, wurden im nächsten Schritt Mikrobiome aus dem Caecum der $\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$ -Mäuse, die in einem spezifisch pathogenfreien Umfeld verschiedene Krankheitsausprägungen zeigten (Abb. 1b), in eine keimfreie $\text{TNF}^{\text{deltaARE}}$ -Maus und in eine keimfreie Wildtyp-Maus transferiert (Abb. 1c), d.h. komplexe Ökosysteme werden auf keimfreie Tiere übertragen (Schaubeck et al. 2016). Verwendet man das Ökosystem einer erkrankten Maus, so wird die Erkrankung übertragen und das vorher keimfreie Tier wird ebenfalls krank (Abb. 1c Mitte). Transferiert man das Ökosystem einer Maus, die zwar genetisch suszeptibel, aber nicht erkrankt ist, wird die Krankheit nicht übertragen und das vorher keimfreie Tier bleibt weiter ohne Erkrankung (Abb. 1c rechts). Wildtyp-Mäuse bleiben in beiden Fällen erkrankungsfrei.

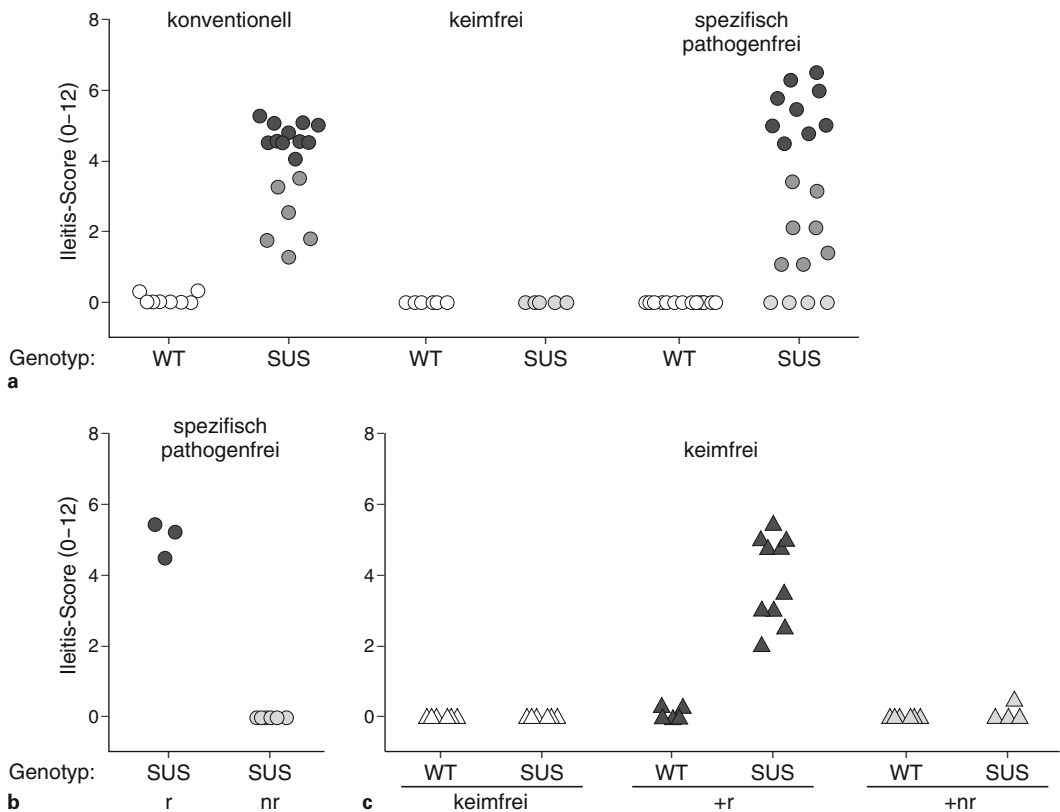


Abb. 1. Ausprägungen einer chronischen Morbus-Crohn-ähnlichen Ileitis im distalen Dünndarm in Mäusen (WT: Wildtyp, SUS: susceptible Tiere [TNF^{deltaARE}]). **a**, unter verschiedenen Versuchsbedingungen (konventionell, keimfrei, spezifisch pathogenfrei) im Alter von 18 Wochen (hellgrau: nicht erkrankt, mittelgrau: leicht erkrankt, dunkelgrau: erkrankt; **b**, bei erkrankten (»responders« [r]) und nicht erkrankten (»non responders« [nr]) suszeptiblen Tieren im spezifisch pathogenfreien Umfeld im Alter von 12 Wochen; **c**, bei keimfreien Wildtyp- und suszeptiblen Tieren im Alter von 12 Wochen, nach Transfer der Mikrobiome (+MB) aus den r- und nr-Tieren (Abb. 1b); Kolonisierung im Alter von 8 Wochen. – Vereinfachte Darstellung, nach verschiedenen Abbildungen in Schaubeck et al. (2016).

Aber handelt es sich dabei wirklich um einen Ökosystemeffekt oder sind einzelne Organismen (sogenannte Pathobionten) an der Pathogenese der chronischen Entzündung beteiligt? Bei einer Monokolonisierung von keimfreien suszeptiblen Mäusen und von Wildtyp-Mäusen mit sog. segmentierten filamentösen Bakterien zeigte sich, dass die Wildtyp-Mäuse gesund bleiben, die suszeptiblen Mäuse krank werden (J. Calasan, N. Waldschmitt, ..., D. Haller, nicht veröff.). Handelt es sich also tatsächlich um einen Effekt des Ökosystems (Mikrobioms) oder doch nur um den eines Keims? Diese Frage muss noch beantwortet werden.

Von der Klinik ins Modell: Funktionale Trennung der Ökosysteme

Es gibt Modelle, in denen z.B. der Stuhl vom Mensch in keimfreie Mäuse transplantiert werden kann. In einer Kohorte von Morbus-Crohn-Patienten in unterschiedlichen Phasen der Erkrankung gibt es große Überlappungen und die Mikrobiome lassen sich über 16S-rRNA-Gensequenzanalysen nicht eindeutig nach Patienten mit einem aktiven Schub oder Patienten mit einer entzündungsfreien Phase (Remission) unterscheiden (A. Metwaly, ..., J. Panes, A. Salas, D. Haller, nicht veröff.). Werden die Ökosysteme in Mäuse transplantiert, ist die funktionale Unterscheidung wesentlich besser. Ein von einem Patienten mit

aktivem Schub kommender Stuhl wird eine Maus, die, wie der Patient auch, genetisch anfällig ist, tatsächlich krankmachen; ein Stuhl von einem Patienten in Remission, d.h. ohne aktiven Schub, wird dies nicht tun (Metwaly et al. 2017). Das heißt, Tiermodelle bieten durchaus die Möglichkeit, die Funktionalität von Ökosystemen jenseits der Sequenzierung zu untersuchen (Buttó & Haller 2017).

Literatur

- Arumugam, M., J. Raes, E. Pelletier, D. Le Paslier, T. Yamada, D. R. Mende, G. R. Fernandes, J. Tap, T. Bruls, J.-M. Batto, M. Bertalan, N. Borruel, F. Casellas, L. Fernandez, L. Gautier, T. Hansen, M. Hattori, T. Hayashi, M. Kleerebezem, K. Kurokawa, M. Leclerc, F. Levenez, C. Manichanh, H. B. Nielsen, T. Nielsen, N. Pons, J. Poulain, J. Qin, T. Sicheritz-Ponten, S. Tims, D. Torrents, E. Ugarte, E. G. Zoetendal, J. Wang, F. Guarner, O. Pedersen, W. M. de Vos, S. Brunak, J. Doré, MetaHIT Consortium (additional members), J. Weissenbach, S. D. Ehrlich & P. Bork. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. – *Nature*, 473 (7346): 174–180.
- Bauer, J. 2019. Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Einführung in das Rundgespräch. – In: Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 11–15.
- Buttó, L. F. & D. Haller. 2017. Functional relevance of microbiome signatures: The correlation era requires tools for consolidation. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139 (4): 1092–1098.
- Ellinghaus, D., L. Jostins, S. L. Spain, A. Cortes, J. Bethune, B. Han, Y. Rang Park, S. Raychaudhuri, J. G. Pouget, M. Hübenthal, T. Folseraas, Y. Wang, T. Esko, A. Metspalu, H.-J. Westra, L. Franke, T. H. Pers, R. K. Weersma, V. Collij, M. D'Amato, J. Halfvarson, A. Boeck J., W. Lieb, F. Degenhardt, A. J. Forstner, A. Hofmann, The International IBD Genetics Consortium, International Genetics of Ankylosing Spondylitis Consortium, International PSC Study Group, Genetic Analysis of Psoriasis Consortium, Psoriasis Association Genetics Extension, S. Schreiber, U. Mrowietz, B. D. Juran, K. N. Lazaridis, S. Brunak, A. M. Dale, R. C. Trembath, S. Weidinger, M. Weichenthal, E. Ellinghaus, J. T. Elder, J. N. W. N. Barker, O. A. Andreassen, D. P. McGovern, T. H. Karlsen, J. C. Barrett, M. Parkes, M. A. Brown & A. Franke. 2016. Analysis of five chronic inflammatory diseases identifies 27 new associations and highlights disease-specific patterns at shared loci. – *Nature Genetics*, 48 (5): 510–518.
- Frank, D. N., A. L. St. Amand, R. A. Feldman, E. C. Boedeker, N. Harpaz & N. R. Pace. 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 104 (34): 13780–13785.
- Gevers, D., S. Kugathasan, L. A. Denson, Y. Vázquez-Baeza, W. Van Treuren, B. Ren, E. Schwager, D. Knights, S. Jin Song, M. Yassour, X. C. Morgan, A. D. Kostic, C. Luo, A. González, D. McDonald, Y. Haberman, T. Walters, S. Baker, J. Rosh, M. Stephens, M. Heyman, J. Markowitz, R. Baldassano, A. Griffiths, F. Sylvester, D. Mack, S. Kim, W. Crandall, J. Hyams, C. Huttenhower, R. Knight & R. J. Xavier. 2014. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. – *Cell Host & Microbe*, 15 (3): 382–392.
- Gopalakrishnan, V., C. N. Spencer, L. Nezi, A. Reuben, M. C. Andrews, T. V. Karpnits, P. A. Prieto, D. Vicente, K. Hoffman, S. C. Wei, A. P. Cogdill, L. Zhao, C. W. Hudgens, D. S. Hutchinson, T. Manzo, M. Petaccia de Macedo, T. Cotechini, T. Kumar, W. S. Chen, S. M. Reddy, R. Szczepaniak Sloane, J. Galloway-Pena, H. Jiang, P. L. Chen, E. J. Shpall, K. Rezvani, A. M. Alousi, R. F. Chemaly, S. Shelburne, L. M. Vence, P. C. Okhuysen, V. B. Jensen, A. G. Swennes, F. McAllister, E. Marcelo Riquelme Sanchez, Y. Zhang, E. Le Chatelier, L. Zitvogel, N. Pons, J. L. Austin-Breneman, L. E. Haydu, E. M. Burton, J. M. Gardner, E. Sirmans, J. Hu, A. J. Lazar, T. Tsujikawa, A. Diab, H. Tawbi, I. C. Glitza, W. J. Hwu, S. P. Patel, S. E. Woodman, R. N. Amaria, M. A. Davies, J. E. Gershenwald, P. Hwu, J. E. Lee, J. Zhang, L. M. Coussens, Z. A. Cooper, P. A. Futreal, C. R. Daniel, N. J. Ajami, J. F. Petrosino, M. T. Tetzlaff, P. Sharma, J. P. Allison, R. R. Jenq & J. A. Wargo. 2018. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. – *Science*, 359 (6371): 97–103.
- Herp, S. & B. Stecher-Letsch. 2019. Minimalismus: Wie uns einfache Modellsysteme helfen, Funktionen des Darmmikrobioms zu verstehen. – In: Bayer. Akademie der Wissenschaften (Hrsg.): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Pfeil, München: 111–118.
- Hörmannspurger, G., M. Schaubeck & D. Haller. 2015. Intestinal microbiota in animal models of inflammatory diseases. – *ILAR Journal*, 56 (2): 179–191.
- Joossens, M., G. Huys, M. Cnockaer, V. De Preter, K. Verbeke, P. Rutgeerts, P. Vandamme & S. Vermeire. 2011. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. – *Gut*, 60 (5): 631–637.
- Jostins, L., S. Ripke, R. K. Weersma, R. H. Duerr, D. P. McGovern, K. Y. Hui, J. C. Lee, L. P. Schumm, Y. Sharma, C. A. Anderson, J. Essers, M. Mitrovic, K. Ning, I. Cleynen, E. Theatre, S. L. Spain, S. Raychaudhuri, P. Goyette, Z. Wei, C. Abraham, J.-P. Achkar, T. Ahmad, L. Amininejad, A. N. Ananthakrishnan, V. Andersen, J. M. Andrews, L. Baidoo, T. Balschun, P. A. Bampton, A. Bitton, G. Boucher, S. Brand, C. Büning, A. Cohain, S. Cichon, M. D'Amato, D. De Jong, K. L. Devaney,

- M. Dubinsky, C. Edwards, D. Ellinghaus, L. R. Ferguson, D. Franchimont, K. Fransen, R. Gearry, M. Georges, C. Gieger, J. Glas, T. Haritunians, A. Hart, C. Hawkey, M. Hedl, X. Hu, T. H. Karlsen, L. Kupcinskas, S. Kugathasan, A. Latiano, D. Laukens, I. C. Lawrance, C. W. Lees, E. Louis, G. Mahy, J. Mansfield, A. R. Morgan, C. Mowat, W. Newman, O. Palmieri, C. Y. Ponsioen, U. Potocnik, N. J. Prescott, M. Regueiro, J. I. Rotter, R. K. Russell, J. D. Sanderson, M. Sans, J. Satsangi, S. Schreiber, L. A. Simms, J. Sventoraityte, S. R. Targan, K. D. Taylor, M. Tremelling, H. W. Verspaget, M. De Vos, C. Wijmenga, D. C. Wilson, J. Winkelmann, R. J. Xavier, S. Zeissig, B. Zhang, C. K. Zhang, H. Zhao, The International IBD Genetics Consortium, M. S. Silverberg, V. Annesse, H. Hakonarson, S. R. Brant, G. Radford-Smith, C. G. Mathew, J. D. Rioux, E. E. Schadt, M. J. Daly, A. Franke, M. Parkes, S. Vermeire, J. C. Barrett & J. H. Cho. 2012. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. – *Nature*, 491(7422): 119–124.
- Kim, E. R. & D. K. Chang. 2014. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: The risk, pathogenesis, prevention and diagnosis. – *World Journal of Gastroenterology*, 20(29): 9872–9881.
- Lee, T., T. Clavel, K. Smirnov, A. Schmidt, I. Lagkouravdos, A. Walker, M. Lucio, B. Michalke, P. Schmitt-Kopplin, R. Fedorak & D. Haller. 2017. Oral versus intravenous iron replacement therapy distinctly alters the gut microbiota and metabolome in patients with IBD. – *Gut*, 66(5): 863–871.
- Lepage, P., R. Häslar, M. E. Spehlmann, A. Rehman, A. Zvirbliene, A. Begun, S. Ott, L. Kupcinskas, J. Doré, A. Raedler & S. Schreiber. 2011. Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. – *Gastroenterology*, 141(1): 227–236.
- Liu, J. Z., S. van Sommeren, H. Huang, S. C. Ng, R. Alberts, A. Takahashi, S. Ripke, J. C. Lee, L. Jostins, T. Shah, S. Abedian, J. Hee Cheon, J. Cho, N. E. Daryani, L. Franke, Y. Fuyuno, A. Hart, R. C. Juyal, G. Juyal, W. Ho Kim, A. P. Morris, H. Poustchi, W. G. Newman, V. Midha, T. R. Orchard, H. Vahedi, A. Sood, J. J. Y. Sung, R. Malekzadeh, H.-J. Westra, K. Yamazaki, S.-K. Yang, International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, International IBD Genetics Consortium, J. C. Barrett, A. Franke, B. Z. Alizadeh, M. Parkes, T. Bk, T. M. J. Daly, M. Kubo, C. A. Anderson & R. K. Weersma. 2015. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. – *Nature Genetics*, 47(9): 979–986.
- Metwally, A., L. F. Butt, N. Waldschmitt, I. Lagkouravdos, A. M. Corraliza, A. Mayorgas, M. Martinez-Medina, M. Allez, J. Panes, A. Salas & D. Haller. 2017. Identification of disease-relevant bacterial signatures in gnotobiotic IL-10 deficient mice using fecal samples from IBD patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. (OP030, oral presentation.) – *Journal of Crohn's and Colitis*, 11(S1): 18.
- Moayyedi, P., M. G. Surette, P. T. Kim, J. Libertucci, M. Wolfe, C. Onischi, D. Armstrong, J. K. Marshall, Z. Kassam, W. Reinisch & C. H. Lee. 2015. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. – *Gastroenterology*, 149(1): 102–109.
- Molodecky, N. A., I. S. Soon, D. M. Rabi, W. A. Ghali, M. Ferris, G. Chernoff, E. I. Benchimol, R. Panaccione, S. Ghosh, H. W. Barkema & G. G. Kaplan. 2012. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. – *Gastroenterology*, 142(1): 46–52.e42, doi: 10.1053/j.gastro.2011.10.001.
- Paramsothy, S., M. A. Kamm, N. O. Kaakoush, A. J. Walsh, J. van den Bogaerde, D. Samuel, R. W. L. Leong, S. Connor, W. Ng, R. Paramsothy, W. Xuan, E. Lin, H. M. Mitchell & T. J. Borody. 2017. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. – *The Lancet*, 389(10075): 1218–1228.
- Pascal, V., M. Pozuelo, N. Borruel, F. Casellas, D. Campos, A. Santiago, X. Martinez, E. Varela, G. Sarabayrouse, K. Machiels, S. Vermeire, H. Sokol, F. Guarner & C. Manichanh. 2017. A microbial signature for Crohn's disease. – *Gut*, 66(5): 813–822.
- Rehman, A., P. Rausch, J. Wang, J. Skieceviciene, G. Kiudelis, K. Bhagalia, D. Amarapurkar, L. Kupcinskas, S. Schreiber, P. Rosenstiel, J. F. Baines & S. Ott. 2016. Geographical patterns of the standing and active human gut microbiome in health and IBD. – *Gut*, 65(2): 238–248.
- Rosien, U. & A. Siebenhaar. 2017. Fäkaler Mikrobiomtransfer – Indikation und Durchführung. – In: Lübbert, C. & R. Vogelmann (Hrsg.): *Gastroenterologische Infektiologie*. De Gruyter, Berlin: 79–85.
- Rossen, N. G., S. Fuentes, M. J. van der Spek, J. G. Tijssen, J. H. A. Hartman, A. Duflou, M. Löwenberg, G. R. van den Brink, E. M. H. Mathus-Vliegen, W. M. de Vos, E. G. Zoetendal, G. R. D'Haens & C. Y. Ponsioen. 2015. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. – *Gastroenterology*, 149(1): 110–118.e4, doi: 10.1053/j.gastro.2015.03.045.
- Schaubeck, M., T. Clavel, J. Calasan, I. Lagkouravdos, S. B. Haange, N. Jehmlich, M. Basic, A. Dupont, M. Hornef, M. von Bergen, A. Bleich & D. Haller. 2016. Dysbiotic gut microbiota causes transmissible Crohn's disease-like ileitis independent of failure in antimicrobial defence. – *Gut*, 65(2): 225–237.
- Van Nood, E., A. Vrieze, M. Nieuwdorp, S. Fuentes, E. G. Zoetendal, W. M. de Vos, C. E. Visser, E. J. Kuijper, J. F. W. M. Bartelsman, J. G. P. Tijssen, P.

- Speelman, M. G. W. Dijkgraaf & J. J. Keller. 2013. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. – The New England Journal of Medicine, 368(5): 407–415.
- Vrieze, A., E. Van Nood, F. Holleman, J. Salojärvi, R. S. Kootte, J. F. W. M. Bartelsman, G. M. Dallinga-Thie, M. T. Ackermans, M. J. Serlie, R. Oozeer, M. Derrien, A. Druesne, J. E. T. Van Hylckama Vlieg, V. W. Bloks, A. K. Groen, H. G. H. J. Heilig, E. G. Zoetendal, E. S. Stroes, W. M. de Vos, J. B. L. Hoekstra & M. Nieuwdorp. 2012. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. – Gastroenterology, 143(4): 913–916. e917, doi: 10.1053/j.gastro.2012.06.031.
- Willing, B. P., J. Dicksved, J. Halfvarson, A. F. Andersson, M. Lucio, Z. Zheng, G. Järnerot, C. Tysk, J. K. Jansson & L. Engstrand. 2010. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. – Gastroenterology, 139(6): 1844–1854.
- Zeller, G., J. Tap, A. Y. Voigt, S. Sunagawa, J. R. Kultima, P. I. Costea, A. Amiot, J. Böhm, F. Brunetti, N. Habermann, R. Hercog, M. Koch, A. Luciani, D. R. Mende, M. A. Schneider, P. Schrotz-King, C. Tournigand, J. Tran Van Nhieu, T. Yamada, J. Zimmermann, V. Benes, M. Kloor, C. M. Ulrich, M. von Knebel Doeberitz, I. Sobhani & P. Bork. 2014. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. – Molecular Systems Biology, 10(11): 766, doi: 10.15252/msb.20145645.

Diskussion

A. Rauwolf: Ich habe eine Frage zu dem Ausblick, den Sie am Ende Ihres Vortrags gegeben haben. Sie sprachen von Diagnostik und möglichen Therapieansätzen. Wie kann ich mir das vorstellen? Kann bei Patienten das Darmmikrobiom ausgetauscht werden oder sollen Säuglinge ein spezielles Mikrobiom bekommen, das in keimfreien Mäusen entwickelt wurde, und damit das optimale Mikrobiom erhalten?

D. Haller: Im Grunde genommen sind das alles Möglichkeiten. Aber es geht als Erstes darum, systematisch klinisch Proben zu sammeln. Aussagekräftige Proben zum Mikrobiom zu nehmen, ist nicht trivial. Wenn zum Beispiel ein Patient mit einem kolorektalen Karzinom diagnostiziert und anschließend nach Hause geschickt wird und eine unterstützende Strahlentherapie bekommt, ist das Mikrobiom schon nicht mehr verwertbar, weil es bereits durch die Therapie verändert wird. Wird er gleich operiert, ist es ebenfalls nicht mehr verwertbar. Das heißt, scheinbar ganz triviale Dinge wie systematisch in der Klinik zu bestimmten Erkrankungsentitäten Mikrobiome zu sammeln, sind schon ein Problem. Erst wenn wir dafür eine Lösung haben, können wir mit dem Versuch anfangen, eine Diagnostik aufzubauen, und dazu muss man klinische Studien durchführen, die korrelativ bis interventiv versuchen, eine Kausalität herauszudestillieren.

K. Freier: Sie haben eine gewisse Dichotomie, eine Zweiteilung, gemacht und gefragt, ob es sich um einen Einzeleffekt eines Pathogens oder um einen Ökosystemeffekt handelt, in dem Sinne, dass eine Bakterienart erst durch eine entsprechende Umgebung zum Pathogen wird. Wenn Sie in dem Modellsystem einer keimfreien Labormaus arbeiten, ist es klar, dass Sie einen Ökosystemeffekt gar nicht beobachten können. Aber sonst ist es im Prinzip doch immer beides, ein Einzel- und ein Ökosystemeffekt.

D. Haller: Sie haben natürlich Recht, es ist beides: Man versucht letztlich, Funktionalität mechanistisch so herunterzubrechen, dass man bestimmte Hauptwirkungen von Nebenwirkungen trennt. Die Maus ist durch das eine

Bakterium krank geworden, aber auch durch das komplexe Ökosystem. Wir wissen, dass dieses krankmachende Bakterium in verschiedenen Ökosystem unterschiedlich gut wächst. Das heißt, das Ökosystem kontrolliert auch die Menge der Organismen, die tatsächlich schädlich sind oder als Pathobionten auf den Wirt wirken. Es kontrolliert über die Kolonisierungsresistenz den Zugang, es kontrolliert die Abundanz und vielleicht sogar die Funktionalität (nicht jeder Organismus ist zu jeder Zeit fit genug, um eine Infektion bzw. eine gewisse Wirkung auf den Wirt zu übertragen). Letztlich kann man durchaus die Hypothese in den Raum stellen, dass das Ökosystem der Modulator für die Funktionalität einzelner Organismen ist. Das muss man aber für jede Erkrankung im Einzelnen untersuchen, es hat keinen Sinn, alles immer nur mit Dysbiose oder mit niedriger Diversität zu erklären.

N.N.: Im Tiermodell kann man durch Antibiotika quasi keimfreie Mäuse machen. In der Klinik gebe ich dem Patienten quasi ein Äquivalent an Antibiotika. Eigentlich müsste ich in dieser Vielfalt von Argumentationen, die Sie dargestellt haben, durch die Antibiotikabehandlung Gruppen von Patienten unterscheiden können, die anfälliger oder nicht anfälliger gegenüber dem Erreger sind. Aber überraschenderweise finden wir nichts.

D. Haller: Es ist selten so, dass wir mit zwei oder drei Antibiotika eine Maus keimfrei machen. Wir reduzieren aber die Keimlast enorm und sondern viele Bakteriengruppen aus. Die anderen balancieren sich dann neu aus. Ich bin sehr skeptisch, wenn Leute behaupten, sie hätten eine Maus durch die Gabe von drei Antibiotika komplett keimfrei gemacht. Uns ist das nie gelungen. Nehmen wir als Beispiel Morbus-Crohn-Patienten: Es gibt Patienten, die profitieren von einer Antibiotikagabe, viele profitieren aber nicht davon. Auch da schieße ich quasi bestimmte Bakteriengruppen heraus und reduziere die Keimlast. Es könnte natürlich sein, dass für bestimmte Patienten ausgerechnet dieses eine Antibiotikum ganz gut funktioniert, weil es ihren persönlichen Pathobionten erst einmal auf eine niedrige Dichte reduziert, und dass dadurch ein

erster klinischer Effekt zu sehen ist. Im Übrigen nimmt man bei der pädiatrischen Behandlung zum Beispiel von Morbus-Crohn-Kindern die diätische Intervention, eine sogenannte exklusive enteral nutrition.¹ Diese verändert das Mikrobiom erst einmal stark und ist extrem gut in ihrer klinischen Effizienz. Man muss darüber nachdenken, was man mit den unterschiedlichen Interventionen erreichen kann und ob man das tatsächlich für jeden der Patienten erreicht.

M. Matern: Wie weit könnten Parodontosebakterien mit dem Darmmikrobiom zu tun haben?

D. Haller: Speziell im kolorektalen Karzinomfeld wird im Moment tatsächlich diskutiert, dass ein orales Bakterium transloziert, sodass es aus dem Mund in tiefere Bereiche des Verdauungstraktes kommt. Das *Fusobacterium* kommt zum Teil auch aus dem oralen Bereich. Wenn es keine wirkliche Barriere mehr im Magen gibt, wäre das durchaus vorstellbar. Aber es gibt eine Reihe von Hinweisen in der Literatur, dass ein typisches orales Bakterium im Darm zunimmt. Das hat alles seine Relevanz, aber man muss systematisch vorgehen: Ist eine Translokation einer oralen Mikrobiota in den Dickdarm per se schlecht für Menschen, die eine Anfälligkeit für ein kolorektales Karzinom haben? Diese Arbeitshypothese muss noch geprüft werden.

M. Wagner: Im Mausmodell gibt es die segmentierten filamentösen Bakterien, die als mögliche Krankheitsursache für die CED identifiziert wur-

den, aber mausspezifisch sind. Wenn man den menschlichen Stuhl von Kranken in die keimfreie Maus gibt, erzeugt man die Krankheit auch. Wie passt das zusammen?

D. Haller: Zum einen handelt es sich um zwei genetisch unterschiedliche Modellsysteme. Was ich Ihnen zu den segmentierten filamentösen Bakterien gezeigt habe, ist die TNF^{deltaARE}-Maus, die eine Morbus-Crohn-ähnliche Ileitis, also eine Entzündung des Dünndarms, bekommt. Die Tatsache, dass ein mausspezifischer Organismus für diese Pathologie verantwortlich ist, hat mir auch Kopfzerbrechen gemacht. Wenn es diesen Organismus nur bei der Maus gibt, wäre das Ergebnis vollkommen irrelevant für die Human-situation. Es gibt einige *Bifidobacterium*-Arten aus dem menschlichen Darmmikrobiom, die im Mausmodell eine ähnlich starke Kapazität zur Th17-Aktivierung haben.² Wir testen im Moment, ob es weitere humanrelevante Bakterien gibt, die Ähnliches können. Wir müssen also immer genau hinsehen, was die Mausmodelle als Antworten liefern können und was nicht. Das andere System, das ich am Ende des Beitrags vorgestellt habe, bei dem die komplexen Humanökosysteme übertragen worden sind, ist die IL-10-Knockout-Maus, die klassischerweise suszeptibel für eine Colitis ist, eine Dickdarmentzündung. Da gibt es keinen wirklich expliziten Mauspathobionten, der diese bewirkt. Ihre Frage legt tatsächlich den Finger in die Wunde, was Modelle betrifft. Man muss etwas von Modellen verstehen, damit man diese Interpretation machen kann.

1 Assa, A. & R. Shamir. 2017. Exclusive enteral nutrition for inducing remission in inflammatory bowel disease in paediatric patients. – Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 20(5): 384–389.

2 Tan, T.-G., E. Sefik, N. Geva-Zatorsky, L. Kua, D. Naskar, F. Teng, L. Pasman, A. Ortiz-Lopez, R. Jupp, H.-J. J. Wu, D. L. Kasper, C. Benoist & D. Mathis. 2016. Identifying species of symbiont bacteria from the human gut that, alone, can induce intestinal Th17 cells in mice. – Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., 113 (50): E8141–E8150, doi: 10.1073/pnas.1617460113.