



Jahresbericht 2023/24

Highlight

AlterN'omics: Alternative Tiermodelle für die biomedizinische Forschung

von Dr. Anton G. Windfelder

Manduca sexta ist ein wichtiger Modellorganismus für die Erforschung von Darmentzündungen. Das Darmepithel (blau) von *Manduca* ähnelt dem von Säugetieren. Es wird von einer schützenden, schleimigen peritrophischen Matrix umgeben (gelb), die das Epithel vor Bakterien (lila) schützt, ähnlich wie beim Menschen. Darüber hinaus verfügt *Manduca* über ein starkes Immunsystem, das pathogene Bakterien wirksam bekämpfen und unter Kontrolle halten kann. Diese Merkmale machen *Manduca sexta* zu einem äußerst nützlichen Modell für die Untersuchung von Darmentzündungen und ermöglichen Einblicke in potenzielle Therapien für ähnliche Erkrankungen beim Menschen.



Kleinsäuger wie Ratten und Mäuse sind aus der präklinischen Forschung nicht mehr wegzudenken. Doch gegen den extensiven Gebrauch dieser Tiere in der biomedizinischen Forschung gibt es zunehmend ethische und ökonomische Bedenken. Dies schlägt sich auch in der Förderpraxis von wissenschaftlichen Projekten sowie der Gesetzgebung nieder. Zukünftig sollen alle Möglichkeiten zur Reduzierung der Versuchstieranzahl sowie die Verwendung möglicher Alternativen zu Wirbeltieren voll ausgeschöpft werden. Wirbellose Tiere wie Insekten können in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle spielen, um klassische Labortiere wie Ratten oder Mäuse zu entlasten. Aus diesem Grund hat das Fraunhofer IME in Kooperation mit der Justus-Liebig-Universität Gießen, der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und dem Max-Planck-Institut Bad Nauheim eine einzigartige Technologieplattform etabliert: **AlterN'omics**.

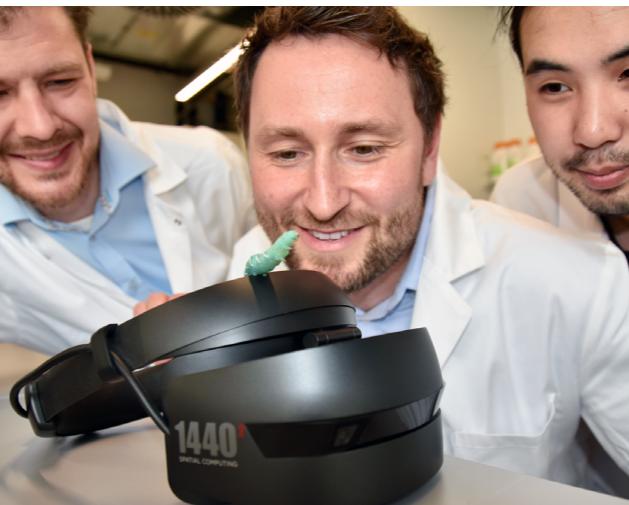
Hierbei werden nachhaltige, effiziente und innovative Technologien gebündelt, um traditionelle Tiermodelle durch Alternativen zu ergänzen. Durch diesen Ansatz wird die biomedizinische translationale Forschung beschleunigt und ökonomisiert. Die gesamtheitliche Betrachtung und Bewertung ('omics) der alternativen Modelle ('alter' für Alternative oder Änderung) ist namensgebend für unseren ergebnisoffenen Technologieansatz.

Etwa 75 Prozent der Gene, die eine Erkrankung bei Menschen

auslösen können, sind auch bei Insekten vorhanden. Dies trifft auch auf die Kernkomponenten des angeborenen Immunsystems zu, die bei Insekten und Säugetieren in hohem Maße konserviert sind. Aus diesem Grund konnten wir die Insektenlarven des Tabakschwärmers (*Manduca sexta*) als alternatives Tiermodell für Darmentzündungen und entzündliche Darmkrankungen erfolgreich etablieren¹. Im Vergleich zu traditionellen Labortieren wie Ratten oder Mäusen bieten Insekten wie *Manduca sexta* jedoch mehrere entscheidende Vorteile: Ihr Einsatz in der Forschung ist schneller und kosteneffizienter als Tierversuche mit Säugetieren und überdies mit weniger ethischen Bedenken verbunden.

AlterN'omics: Innovativ, nachhaltig und effizient

Das Besondere an den Larven des Tabakschwärmers ist ihre Größe. Im Unterschied zu anderen Insekten wie etwa der Taufliege *Drosophila* sind die Raupen des Tabakschwärmers in etwa so groß wie eine kleine Maus und damit groß genug für die medizinische Bildgebung. Mittels unserer Technologieplattform AlterN'omics zeigen wir, dass entzündliche Veränderungen im Darm der Larven mittels Computertomografie (CT), Magnetresonanztomografie (MRT) oder Positronen-Emissions-Tomografie (PET) zielgenau charakterisiert werden können.



Mit unseren 3-D Atlanten kann der Darm des Tabakschwärmers in der Virtual Reality (VR) oder Augmented Reality (AR) erkundet werden. Unsere 3-D Modelle helfen dabei, die Kontrastmittelverteilung im Darm vorherzusagen.

Um die Kontrastmittelreicherung des Insektendarms besser verstehen und vorhersagen zu können, haben wir aufwendige 3D-Atlanten mittels Mikro-Computertomographie und Elektronenmikroskopie erstellt.^{2,3} Anhand dieses Atlanten können wir zeigen, dass sich der Darm der Larven in gerader Linie durch das Tier zieht und es besonders leicht ist, Kontrastmittel oder Tracer, die sich im Rahmen einer Entzündung in die Darmwand einlagern, zu quantifizieren. Generell gilt: Je mehr Kontrastmittel sich in die Darmwand einlagert, desto stärker ist auch die Entzündung. Aufgrund der enormen Größe der Tiere können klinische CT- und MRT-Geräte genutzt werden, um den Darm der Tabakschwärmer zu charakterisieren. Dies ermöglicht eine Hochdurchsatz-Bildgebung, mit der präklinische Fragestellungen *in vivo* beantwortet werden können.

Das Nadelöhr in der Forschung

Neue Wirksubstanzen werden meist in Zellkultur-Experimenten untersucht. Die Forschung mit Säugetierzellen ist einfach und günstig, erlaubt aber oft nur eine begrenzte Aussagekraft darüber, wie sich eine Substanz *in vivo*, also im komplexen Wirkungsgeflecht eines lebenden Organismus, verhält. Tatsächlich ist dies ein Nadelöhr in der Erforschung neuer Wirksubstanzen und Therapien, da sich Versuche aus der Zellkultur oft nicht im Mausmodell wiederholen lassen. Genau an diesem Punkt können Versuche mit Insekten wie *Manduca sexta* weiterhelfen: Substanzen, die positiv in der Zellkultur evaluiert wurden, können im Insektenmodell *in vivo* getestet werden. Falls der positive Effekt im Insekt repliziert werden kann, können dann weitere Versuche mit Säugetieren und schließlich klinische Studien folgen. Unnötige Versuche mit Mäusen können so

vermieden werden, was Ressourcen spart und die Forschung insgesamt ethischer macht.

Anwendungsmöglichkeiten

Die vorgestellte alternative Insektenplattform kann beispielsweise genutzt werden, um neue antibiotische Substanzen zu testen. Wir konnten anhand von Tieren, die mit darmentzündungsauslösenden Bakterien gefüttert wurden, zeigen, dass ein Antibiotikum konzentrationsabhängig eine Entzündung verhinderte. Die Stärke der Darmentzündung ist mit den genannten bildgebenden Verfahren genau quantifizierbar. Zusätzlich lassen sich mit dem Verfahren auch Bakterien in Bezug auf ihre gastrointestinale Pathogenität charakterisieren und einordnen.

Ein weiteres Anwendungsgebiet ist die Entdeckung neuer antientzündlicher Medikamente und die Überprüfung von präklinischen Hypothesen zu Darmentzündungen. Schon lange wird vermutet, dass chronisch entzündliche Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa durch sogenannte reaktive Sauerstoffspezies (ROS) mitverursacht werden. Im Darm werden diese reaktiven Moleküle durch das Protein DUOX (kurz für Duale Oxidase) produziert. Dieses Protein ist bei Menschen und Insekten bei einer Darmentzündung gleichermaßen hochreguliert. Folgerichtig führte die Aktivierung von DUOX im Raupenmodell zu einer Darmentzündung, die mittels Bildgebung charakterisiert werden konnte. Interessanterweise konnte die Darmentzündung beim Tabakschwärmer - in Analogie zum Menschen - auch durch Cortison therapiert werden. Inhibitoren von DUOX sorgten ebenfalls für eine Remission.



*Der Darm der Tabakschwärmer kann mittels klinischer CT-, MRT- und PET-Geräte charakterisiert werden. Der große Vorteil der klinischen Geräte im Vergleich zu speziellen Kleintierscannern ist die größere Untersuchungskapazität. So können im klinischen CT mühelos hunderte von Raupen zur gleichen Zeit untersucht werden, wodurch neue Medikamente oder Kontrastmittel effektiv *in vivo* getestet werden können.*

Dies demonstriert die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf das Säugetiermodell und zeigt, dass auch neue antientzündliche Substanzen im Raupenmodell getestet werden können. Nun sollen weitere Studien folgen, die die Rolle von DUOX bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beim Menschen überprüfen.

Weitere spannende Anwendungsgebiete sind die Entwicklung und Evaluation von neuen Kontrastmitteln und Tracern für die Radiologie oder Nuklearmedizin. Zusammen mit Kooperationspartnern der Universität Twente aus den Niederlanden und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf konnten wir im Rahmen des Verbundprojekts AlterN'omics die Larven von *Manduca sexta* als alternatives Tiermodell für die in vivo-Erprobung neuer und innovativer MRT-Kontrastmittel etablieren.⁴

Die meisten derzeitigen MRT-Kontrastmittel basieren auf dem giftigen Element Gadolinium. Unsere Kooperationspartner untersuchen stattdessen biologisch abbaubare Phosphor-Kontrastmittel als umweltfreundlichere Alternative. Phosphor ist aufgrund seiner natürlichen Stabilität eine vielversprechende

Alternative für die MR-Bildgebung. Das natürlich vorkommende Isotop, ³¹P, ist sowohl spin-aktiv als auch äußerst biokompatibel. In vivo-Tests wurden im Rahmen der Technologieplattform AlterN'omics in Gießen und Düsseldorf mit den Insektenlarven von *Manduca sexta* durchgeführt. Der neue Wirkstoff hob sich klar und deutlich vom Hintergrund der Larven ab und blieb über 24 Stunden in der Hämolymphe (dem Blut der Larven) nachweisbar. Darüber hinaus konnten Abbauprodukte des Polymers im Kot der Raupen nachgewiesen werden, was den natürlichen in vivo-Abbau des Polymers bestätigte.

Insgesamt konnten wir die Verwendung von Insektenlarven wie *M. sexta* als alternatives Tiermodell auch für die in vivo-Forschung neuer Kontrastmittel demonstrieren und das große Potenzial von AlterN'omics für unsere Kunden zeigen. Vergleichbare Studien können bei uns auch unter GLP-Bedingungen durchgeführt werden.

Natürlich ist das Insektenmodell in einigen Bereichen auch limitiert. Der wichtigste Unterschied zu Säugetieren ist die



Die Raupen des Tabakschwärmers (*Manduca sexta*) sind in etwa so groß wie eine kleine Maus und damit groß genug für die medizinische Bildgebung.

Abwesenheit der B- und T-zellbasierten adaptiven Immunantwort. Weitere Unterschiede umfassen das offene Kreislaufsystem, Ungleichheiten bei der Atmung, die bei Insekten über Tracheen erfolgt, sowie Unterschiede beim Transport von Glukose im Blut beziehungsweise der Hämolymphe der Tiere.

Trotz dieser Unterschiede sind vor allem evolutionär sehr alte Gene zwischen Insekten und Säugetieren hoch konserviert. Genau diese primordialen Gene sind überproportional oft mit menschlichen Erkrankungen assoziiert. Aus diesem Grund sind Insektenmodelle hervorragend für das Verständnis menschlicher Krankheiten geeignet und können in bestimmten Fragestellungen Mäuse ersetzen.

Publikationen:

- ¹ Windfelder, A.G., Müller, F.H.H., Mc Larney, B., Hentschel, M., Böhringer, A.C., von Bredow, C.-R., Leinberger, F.H., Kampschulte, M., Maier, L., von Bredow, Y.M., et al. High-throughput screening of caterpillars as a platform to study host–microbe interactions and enteric immunity. (2022) Nature Communications 13. [10.1038/s41467-022-34865-7](https://doi.org/10.1038/s41467-022-34865-7).

- ² Windfelder, A.G., Steinbart, J., Flögel, U., Scherberich, J., Kampschulte, M., Krombach, G.A., and Vilcinskas, A. A quantitative micro-tomographic gut atlas of the lepidopteran model insect *Manduca sexta*. (2023) iScience 26. [10.1016/j.isci.2023.106801](https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106801)

- ³ Windfelder, A. G., Steinbart, J., Scherberich, J., Krombach, G.A., and Vilcinskas, A. An Enteric Ultrastructural Surface Atlas of the Model Insect *Manduca sexta*. (2024) iScience. [j.isci.2024.109410](https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109410)

- ⁴ Koshkina, O., Rheinberger, T., Flocke, V., Windfelder, A., Bouvain, P., Hamelmann, N.M., Paulusse, J.M.J., Gojzewski, H., Flögel, U., and Wurm, F.R. Biodegradable polyphosphoester micelles act as both background-free (³¹P) magnetic resonance imaging agents and drug nanocarriers. (2023) Nat Communications 14, 4351. [10.1038/s41467-023-40089-0](https://doi.org/10.1038/s41467-023-40089-0)

Kontakt

Dr. Anton Windfelder

anton.windfelder@ime.fraunhofer.de

