

(Dr. Uwe Wolfrum) Vielen Dank für die Zusammenfassung. Können Sie mich hören? Ich möchte Sie hier nochmal alle sehr herzlich in Mainz begrüßen.

Jetzt hatten wir ja schon die ersten beiden wissenschaftlichen Tage und jetzt sind Sie als Patienten hier, als Highlight und können nochmal die Diskussion zum Usher-Syndrom weiterführen. Ich möchte nun natürlich noch einmal zusammenfassen, was wir eigentlich über die Zell- und Molekularbiologie des Usher-Syndroms gelernt haben. Und wenn wir uns das Usher-Syndrom ansehen, haben wir 10 verschiedene Gene. Und das haben Sie mittlerweile ja auch schon gehört und wir haben tatsächlich 10 verschiedene Usher-Gene und die werden alle in diesen beiden Zelltypen ausgedrückt. Und zwar in den Haarzellen und in den Photorezeptoren.

Deswegen müssen wir natürlich die Zellmechanismen durchblicken und dadurch schauen wir natürlich auf Zellen, vielleicht schauen wir auch auf andere Zellen, vielleicht natürlich auch die Intestinalzellen, die im Darm sitzen, um zu verstehen, wie diese Moleküle eigentlich tatsächlich funktionieren. Ich glaube tatsächlich, dass es sehr, sehr wichtig ist, zu sagen, dass wir die Molekular- und Zellfunktion der Krankheit, der Usher-Krankheit, der Usher-Moleküle entschlüsseln müssen und das ist ext-

UWE WOLFRUM

rem wichtig für die Entwicklung einer effektiven Therapie. Genau das tun wir natürlich. Das Ziel ist eine Behandlung für Sie, für euch, aber wir müssen natürlich die Moleküle zuerst verstehen, um eine effektive Behandlung zu bekommen. Was wir hier sehen, ist natürlich, dass diese ganzen verschiedenen Usher-Gene alle verbunden sind in der Zelle. Und sie funktionieren also zusammen als, ja, als eine Gemeinschaft.

Wie wir als Gesellschaft funktionieren, funktionieren auch die Gene in den Photorezeptorzellen oder in den Haarzellen als Gemeinschaft. Jetzt gehe ich zu den Haarzellen. Die Haarzellen sitzen im Innenohr, das wissen natürlich alle. Hier haben wir ein Bild der Position der Haarzellen. Das sind also die Haarzellen in der Cochlea.

Und wenn wir uns das genauer ansehen, dann sehen wir natürlich, dass es hier auch einige Haarbündel gibt. Und der Name kommt eben aus diesen Haarbündeln sozusagen und diese Haarbündel sind sehr wichtig, wir nennen die auch Stereozilien, weil sie ein Cytoskelett haben. Und zwar innen. Also das ist diese Struktur. Es ist aber natürlich wichtig zu verstehen, dass diese Haare für die Zellstimulation sehr wichtig sind.

Die Stimulation dieser Zellen wird also ausgelöst durch die Bewegung dieser Härchen und dadurch werden natürlich die Neuronen bzw. die Haarzellen depolarisiert und dadurch hört man. Zusammen mit anderen und natürlich auch einem französischen Forscherteam um Christine Petit wollten wir herausfinden, wo diese Moleküle eigentlich

UWE WOLFRUM

genau sitzen in den Haarzellen, die durch die Krankheit beeinflusst werden.

Die Lokalisierung dieser Usher-Moleküle sieht man hier in dieser Zeichnung. Es gibt verschiedene Moleküle, die an der Haarzellenbasis sitzen. Das sind die Ankerverbindungen und es sind Moleküle, die diese kleinen Haare verbinden. Das sind also die Moleküle, die mit dem Usher Typ 2 zusammenhängen. Sie sitzen also an der Basis und formen also diese Verbindungen. Oben wiederum sieht man natürlich andere Moleküle, die zum Usher 1 gehören.

Sie formen einige Membranverbindungen zwischen den Stereozilien und die Spitzen dieser Stereozilien, da sieht man ebenfalls Verbindungen. Das ist also die Entwicklung. Und wenn wir dann dort Defekte feststellen bei diesen Usher-Molekülen, dann sieht man eben, dass die Entwicklung dieser Defekte entweder zur Taubheit direkt nach der Geburt oder in den frühen Lebensjahren führt.

Wenn wir jetzt nun also die erwachsenen Zellen ansehen, haben diese Moleküle, die dem Usher-Syndrom zugehörig sind, eine andere Funktion. Eine Funktion ist die so genannte Tipplink-Struktur, also die Verbindungen der Spitzen zu erstellen. Und das ist natürlich wichtig. Denn diese Tipplinks, wie sie heißen, sind an die mechanisch-sensitiven Kanäle angebunden. Diese Kanäle müssen aber offen bleiben, um eine depolarisierte Zelle zu erhalten. Dieser Tipplink ist also eine extrem wichtige Struktur, die wiederum zur Depolarisierung der Haarzellen führt, was zum Hören führt. Und jetzt haben wir natürlich zwei Probleme,

UWE WOLFRUM

wenn wir defekte oder kaputte Haarzellen oder kaputte Moleküle in Bezug auf das Usher-Syndrom haben.

Wir haben natürlich ein Problem bei der Differenzierung. Wir sehen, dass diese Haarbündel im Wildtyp - also das ist zum Beispiel bei der normalen Cochlea - alle strukturiert sind und sehr, sehr schön ausgerichtet sind. Andererseits sieht man unten einen MYO7A Usher-Typ, das ist also ein mangelhaftes Haarbündel. Die sind also unorganisiert sozusagen. Die Kontakte zwischen den Stereozilien funktionieren also nicht mehr. Es gibt keine Verbindung. Und deswegen haben wir die defekten Usher-Moleküle.

Auch in der erwachsenen Haarzelle sehen wir dann natürlich hier einen Defekt, weil wir dort keine Tipplinks mehr haben. Gestern haben wir ebenfalls gehört, dass es enorm wichtig ist, Moleküle, Usher-Syndrom-Moleküle an den Haarzell-Synapsen zu haben. Das waren sehr, sehr neue Daten. Das hat Aziz präsentiert, dass Clarin-1 an diesen Kontakten benötigt wird für die Neuronen, die in das Gehirn gesendet werden, für die Hörleistung. Und das dürften wir natürlich auch nicht vergessen.

Wie auch heute bereits erwähnt wurde, sind diese Usher-Syndrom-Moleküle nicht nur präsent in unserem Ohr oder im Auge, sondern sie sind tatsächlich im gesamten Körper vorhanden. Wir sehen also auch einige Moleküle im Darm. Und wir sehen hier Matt und Mingjie, sie haben festgestellt, dass Proteine und Moleküle in den verschiedenen Organen exprimiert werden und man sieht natürlich hier auch die Mikrovilien und die so genannten Brush

UWE WOLFRUM

borders im Darm. Man sieht natürlich ganz klar, dass es hier zwischen den Stereozilien-Tipplink-Komplexen, die ich bereits vorgestellt habe, die natürlich ganz oben auf den Stereozilien sitzen, und den Magen-Darm-Komplexen Zusammenhänge gibt. Wenn diese Komplexe nicht effektiv arbeiten, haben wir natürlich ein Problem.

Das sehen wir hier. Da haben wir keine richtige Anzahl mehr für diese Gastrointestinalzellen, also für diese Mikrovillien. Und man sieht also hier diese Mäuse leiden natürlich auch an diesem Effekt, dieses intermikrovillialen Haftungsdefektes. Und da sieht man natürlich ebenfalls ein schwächeres Wachstum durch Mangelernährung. Das sehen wir ebenfalls bei Patienten von Usher-Syndrom, dass es ein Problem gibt mit der Mangelernährung.

Jetzt gehen wir zum Auge. Das ist ebenfalls ein extrem wichtiger Teil meiner Präsentation. Ich wollte hier ansprechen, wie es sich eigentlich auf das Auge auswirkt. Man sieht natürlich hier die Retina. Und die Photorezeptoren sitzen natürlich hier in der Retina und sie sind wie die Haarzellen mit anderen Neuronen verbunden.

Und wir haben natürlich gesehen, dass die Photorezeptorzellen die Usher-Moleküle enthalten. Und hier sieht man schon, wo sich das auf die Photorezeptoren bezieht und wo die Usher-Moleküle, die Usher-Syndrom-Moleküle gefunden werden können. Hier haben wir das Außensegment, dort sieht man die verschiedenen lokalisierten, visuellen Elemente. Wir haben natürlich hier auch das verbindende Cilium. Und man sieht ebenfalls außen die

UWE WOLFRUM

Moleküle, die mit dem Usher- Syndrom verbunden sind. Wir haben natürlich auch das Innensegment und bei diesen Photorezeptorzellen sieht man einfach die Biosynthesemoleküle und das ist natürlich sehr, sehr wichtig. Also diese Biosynthese ist sehr, sehr wichtig für die Signale aus diesen visuellen Pigmenten.

Und dann haben wir natürlich noch die Synapsen. Das sind die Kontakte zu den anderen Neuronen und hier sieht man die Verteilung auf die gesamte Zelle aufgeteilt. Das sind also die Usher-Moleküle, die wir hier rechts sehen. Aber man sieht ganz klar, dass wir eine Lokalisierung am Stamm des Ciliums haben und das wiederum haben wir studiert. Jun Yang hat da natürlich neue Daten präsentiert. Hier sehen wir beispielsweise, dass die Usher-2-Moleküle genau hier sitzen im verbindenden Cilium und die formen dort Verbindungen wie die Haarzellen, also Membrane sozusagen. Und das ist also eine kleine Verbindungstasche sozusagen. Das sind also Moleküle, die mit Usher 2 zusammenhängen.

Basierend auf anderen Befunden glauben wir nun also, dass die Funktion dieses Komplexes zusammenhängt mit dem Transport der Moleküle. Also ich habe das ja bereits erwähnt, dass wir hier einen Transport haben vom Innensegment zum Außensegment und man sieht klar, wie es alles durch - wie das Opsin durch das Innensegment durch diese kleine Öffnung Kinozilien ins Außensegment transportiert werden und dort müssen die Moleküle funktionieren. Und man kann natürlich Licht erkennen als visuelles Signal. Wenn dieser Transport defekt ist, haben

UWE WOLFRUM

wir ein defektes visuelles System. Und genau bei diesen Verbindungen zwischen dem Innen- und Außensegment finden wir die Usher-Moleküle bezüglich Usher Typ 2. Wir haben gleichzeitig gelernt, dass wir keine Mäuse sind. Wir haben natürlich keine Degeneration in diesen Mäusen gefunden. Und deswegen repräsentieren sie auch nicht unbedingt die Krankheit, deswegen haben wir - und wenn ich "wir" sage, dann meine ich natürlich die wissenschaftliche Gemeinschaft - uns die Frage gestellt, was der Unterschied zwischen der Maus und dem Menschen ist.

Wenn wir jetzt also die Photorezeptoren ansehen, sehen wir ganz, ganz maßgebliche Unterschiede. Unsere Zellen sind etwas größer, aber wir haben natürlich auch die so genannten calycealen Prozesse. Und in diesen Prozessen finden wir die Usher-Moleküle für Usher 1, aber auch einige Usher-2-Moleküle.

Genau, hier haben wir große, große Änderungen oder Veränderungen zwischen diesen Zelltypen. Und hier sehen wir eben, was Aziz El Amaroui gemacht hat. Er hat diese Hypothese der Calycealen-Prozesse getestet für diese Photorezeptor-Funktionen, wie das alles zusammenhängt und hat das dann alles in einem Tier getestet und das war der *Xenopus*, also der Frosch.

Wir sehen hier also die Daten, das ist die Photorezeptor-Zelle und hier sind die kleinen Erweiterungen. Wir haben hier also USH1F und wenn wir uns die Photorezeptoren des Frosches ansehen, ist das PCDH15 nicht vorhanden. Wenn wir uns weiter mit den Photorezeptor-Zellen

UWE WOLFRUM

beschäftigen, sehen wir, dass das Außensegment verformt ist. Diese Calycealen-Prozesse betreffen also wahrscheinlich hauptsächlich den Außenbereich.

Man sieht natürlich noch einen weiteren Phänotyp und zwar sieht man, dass die Außensegmentscheiben nicht in der richtigen Form sind wie in einem normalen System. Diese calycealen Prozesse sind also sehr, sehr ähnlich zu den Haarzellenprozessen, wie wir sie vorher bereits besprochen haben. Wir haben uns natürlich auch andere Modelle angesehen, um festzustellen, ob wir weiter Forschung zu diesen Themen durchführen können. Dann haben wir uns überlegt, wie wir ein größeres Tier damit beforschen können. Da haben wir natürlich auch diese calycealen Prozesse weiter untersucht.

Aktuell sind wir also im Prozess, das zu generieren, also ein Usher-Schwein. Hierfür haben wir ein Konsortium aus München gegründet zusammen mit Mainz. Und da wollen wir eben ein USH1C-Schweinmodell erstellen und hier können wir das bereits generieren und jetzt versuchen wir natürlich mit Gentherapie an die Tiere zu gehen, mit natürlich weiteren Behandlungsmöglichkeiten, das werden wir auch heute noch einmal genauer hören. Auf der nächsten Folie möchte ich eine weitere Strategie darstellen und zwar suchen wir natürlich auch nach Partnern.

Wir haben das Usher-Network, das habe ich bereits vorgestellt. Ich habe die Haarzellen bereits besprochen, aber wir haben ebenfalls festgestellt, dass es bei anderen Molekülen Interaktionen geben kann und wir haben hier

UWE WOLFRUM

festgestellt, dass das natürlich sehr, sehr nahe liegt an diesem Spruch "Sag mir, wer deine Freunde sind, und ich sage dir, wer du bist." Also das zielt auch hier.

Und auch deswegen können wir das übertragen auf die Moleküle in der Zelle. Und hier sehen wir also wie gesagt - das hatten wir am Anfang schon gesehen -, dass es viele verschiedene Verbindungen gibt und da gibt es eben die verschiedenen Genregulationen oder Splicing oder auch den Ciliartransport. Hier gibt es eben verschiedene Sachen, die wir noch beleuchten müssen um sicherstellen zu können, dass wir verstehen, wie das alles funktioniert.

Und damit möchte ich Ihnen danken für Ihre Aufmerksamkeit und später können Sie natürlich noch gerne weitere Fragen stellen. Ich möchte also diese Präsentation auch noch der Suchert-Familie um Steffen Suchert und der Thomas Welp-Familie verschreiben.

Und damit Danke. (Applaus)