GERMAN NETWORK FOR BIOINFORMATICS INFRASTRUCTURE

VON DER DATENANALYSE ZUM VERSTEHEN KOMPLEXER BIOLOGISCHER SYSTEME

Highlights aus dem Deutschen Netzwerk für Bioinformatik-Infrastruktur

www.denbi.de

DIE ERFORSCHUNG DES MENSCHLICHEN MIKROBIOMS

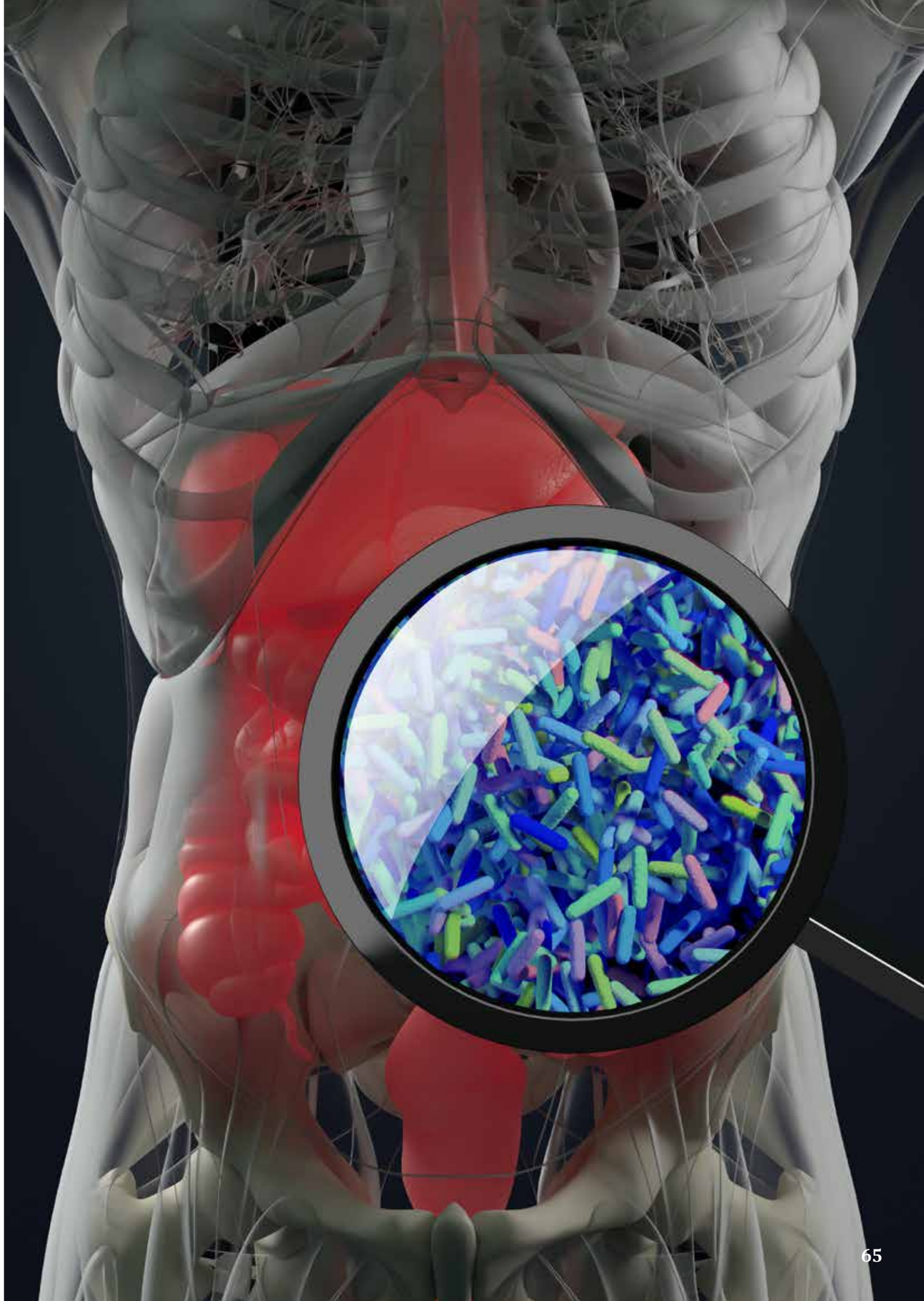
gibt Aufschluss über die Entstehung von Krankheiten und eröffnet neue Behandlungswege

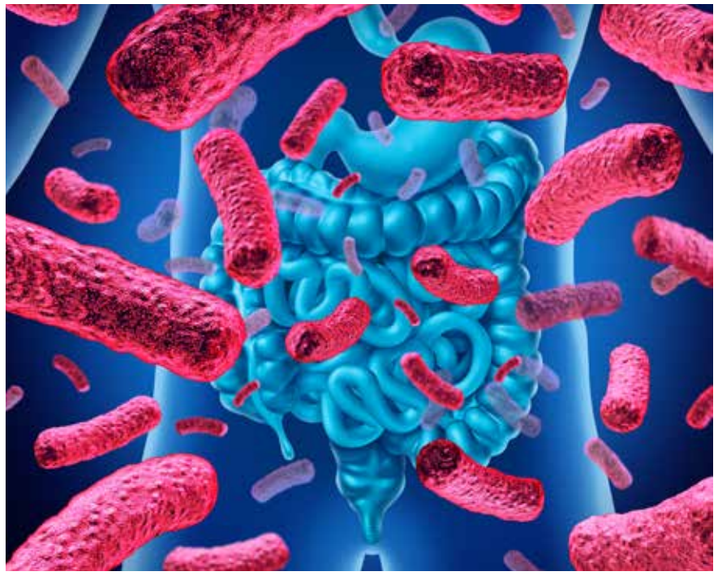
Die Mikrobiomforschung erkundet unsere mikrobiellen Mitbewohner und ihren Einfluss auf unsere Gesundheit. Dabei spielt die bioinformatische Datenanalyse eine entscheidende Rolle, um die Wechselwirkungen zwischen Mensch und Mikrobiom besser zu verstehen und daraus Biomarker – zum Beispiel für die Darmkrebsfrüherkennung – abzuleiten. Damit wird sie zukünftig zur Prävention von Krankheiten und zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten beitragen.

Die Forschung der letzten Jahre enthüllt zunehmend, in welchem Umfang die mikrobielle Besiedlung des Menschen unsere Gesundheit beeinflusst; charakteristische Veränderungen des Mikrobioms sind für eine Vielzahl von Krankheiten erkennbar. Beispielsweise wurden mikrobielle Biomarker zur Darmkrebsfrüherkennung identifiziert, die derzeit klinisch erprobt werden. Zudem haben Forscher, unter anderem des de.NBI-Netzwerks, begonnen, Wechselwirkungen zwischen Medikamenten und Darmbakterien systematisch zu untersuchen. Die Voraussetzungen dafür wurden durch Fortschritte in der Hochdurchsatz-Sequenzierung des mikrobiellen Erbguts (DNA), aber auch durch bioinformatische Entwicklungen zur Auswertung dieser Sequenzdaten geschaffen. Insbesondere den entscheidenden Beitrag der Bioinformatik möchten wir hier am Beispiel kürzlich veröffentlichter Studien verdeutlichen.

DAS MENSCHLICHE MIKROBIOM IST ARTENREICH UND SO INDIVIDUELL WIE EIN FINGERABDRUCK

Die mikrobiellen Mitbewohner des Menschen, ihre Gene und nicht zuletzt ihre Stoffwechselprodukte, die das Umweltmilieu entscheidend prägen, werden insgesamt als Mikrobiom bezeichnet. Neben anderen Mikroorganismen wie Hefen und Viren können mehr als 1.000 verschiedene Bakterien- und Archaeen-Arten unseren Darm besiedeln. Die Zusammensetzung dieser artenreichen mikrobiellen Gemeinschaft – früher auch als Darmflora bezeichnet – variiert von Mensch zu Mensch; selbst eineiige Zwillinge haben ein unterschiedliches Darmmikrobiom [1]. Noch gewaltiger ist die genetische Vielfalt des Mikrobioms – das Metagenom, welches die Gesamtheit aller mikrobiellen Gene bezeichnet, umfasst allein im Falle des Darmmikrobioms eine etwa 100-fach größere Zahl an Genen als das menschliche Genom.





DIE MIKROBIOMFORSCHUNG UNTERSUCHT EINZELNE BAKTERIELLE GENE SOWIE DAS ERBGUT GANZER MIKROBIELLER ÖKOSYSTEME – DAS METAGENOM

Diese Erkenntnisse verdanken wir vor allem den weitreichenden Entwicklungen neuer Sequenziertechnologien, die heute die Entschlüsselung der genetischen Information mit enormen Durchsatzraten ermöglichen. Mit der sogenannten Shotgun-Metagenomik können sogar alle Gene in allen Organismen, die in einer bestimmten Probe vorhanden sind, gleichzeitig ausgelesen werden. Dass dabei die Mikroorganismen nicht kultiviert werden müssen, ist ein entscheidender Vorteil, da viele Mikroorganismen unter Laborbedingungen nicht wachsen.

Allerdings stellt die Analyse von Metagenom-Sequenzdaten eine enorme bioinformatische Herausforderung dar. So sind beispielsweise die Kategorisierung der bakteriellen Vielfalt einer Probe (Abbildung 1) und die Bestimmung der Häufigkeiten einzelner Bakterienarten darin (taxonomische Bestimmung und Quantifikation) ein zentraler bioinformatischer Analyseschritt. Um dabei höchste Genauigkeit zu erreichen, haben Forscher am EMBL das mOTUs Computerprogramm entwickelt. Dessen Kernstück bildet eine umfassende Datenbank, die Gene aller Bakterien enthält, die bisher kultiviert und deren Genom entschlüsselt ist, aber zusätzlich auch solche Gene, die direkt aus Metagenomdaten gewonnen wurden. Deren genaue Einordnung in den bakteriellen Stammbaum erlaubt es der mOTUs-Software, auch die Häufigkeit von bisher nicht kultivierten Bakterien in Metagenomen zu bestimmen, was die Genauigkeit der bakteriellen Biodiversitätsanalysen gegenüber allen anderen bisher verfügbaren Analysewerkzeugen entscheidend verbessert.

Zusätzlich zu solchen Biodiversitätsanalysen können Forscher ein Metagenom auch daraufhin untersuchen, welche Stoffwechselwege den Mikroben zur Verfügung stehen, welche biochemischen Produkte sich daraus ergeben und welche Bedeutung diese möglicherweise für den Gesundheitszustand des menschlichen Organismus haben. Dass der mikrobielle Stoffwechsel in seiner enormen Vielfalt bisher nur sehr lückenhaft erforscht ist, erschwert solche Analysen und macht vielfach statistische Inferenzen und Extrapolationen nötig. Dabei dienen ebenfalls umfassende Datenbanken, die die bisher bekannte evolutionäre und funktionelle Vielfalt mikrobieller Gene und Stoffwechselwege kartieren, als Grundlage. Seit mehr als zehn Jahren pflegen und erweitern Forscher am EMBL eine solche Datenbank, EggNog genannt. Insbesondere die Unsicherheiten bezüglich der Richtigkeit und Vollständigkeit der Informationen in diesen Datenbanken wurden dabei gründlich untersucht und mit anderen Datenbanken verglichen. Auf dieser Grundlage wird mit großem zeitlichem und finanziellem Aufwand die Qualität der Datenbank durch manuelles Kuratieren stetig gesteigert.

DAS MENSCHLICHE MIKROBIOM TRÄGT ENTSCHEIDEND ZUR GESUNDHEIT BEI

Eingehende Analysen des mikrobiellen Stoffwechsels im menschlichen Darm haben dazu beigetragen, die Auffassung zu revidieren, dass Bakterien grundsätzlich Krankheiten verursachen. Ganz im Gegenteil zeigen etliche Studien, dass ein gesundes Darmmikrobiom zu unserem Wohlbefinden beiträgt. Solche gesundheitsfördernden Bakterien trainieren das Immunsystem, sie bilden einen hochwirksamen Schutz gegen das unkontrollierte Wachstum von Krankheitserregern und ihr Stoffwechsel liefert uns viele wichtige – teilweise essenzielle – Vitamine und Nährstoffe. Der mikrobielle Stoffwechsel ist so eng mit unserem körpereigenen verwoben, dass er selbst neurale Steuerungsprozesse und die zelluläre Regeneration beeinflusst [2] (Abbildung 2).

DIE ERFORSCHUNG DES MENSCHLICHEN MIKROBIOMS GIBT AUFSCHLUSS ÜBER
DIE ENTSTEHUNG VON KRANKHEITEN UND ERÖFFNET NEUE BEHANDLUNGSWEGE
HUMANE BIOINFORMATIK

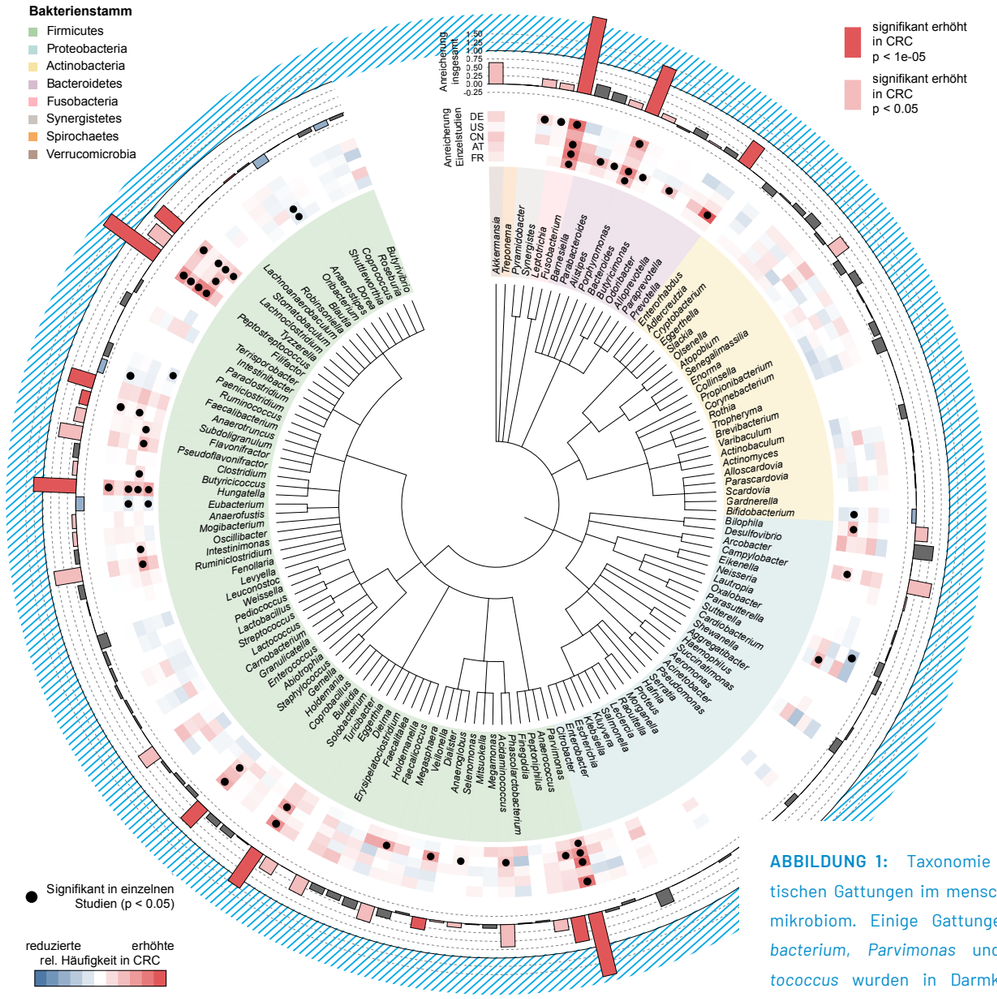


ABBILDUNG 1: Taxonomie der prokaryotischen Gattungen im menschlichen Darmmikrobiom. Einige Gattungen wie *Fusobacterium*, *Parvimonas* und *Peptostreptococcus* wurden in Darmkrebspatienten (*Colorectal cancer, CRC*) stark vermehrt vorgefunden und das relativ konsistent in Daten von mehreren Studien.

VERÄNDERUNGEN IM DARMMIKROBIOM GEHEN MIT VIELEN KRANKHEITEN EINHER

Trotz des vielfachen Nachweises der positiven Effekte des Darmmikrobioms auf die menschliche Gesundheit ist es bisher nicht gelungen zu definieren, was genau ein gesundes intestinales Mikrobiom ausmacht. Zu diesem Zweck wurden auch vergleichende Analysen, sogenannte Assoziationsstudien, durchgeführt, in denen das Mikrobiom von Patientengruppen mit gesunden Probanden verglichen wird. So lassen sich systematisch mit der untersuchten Krankheit assoziierte Mikrobiom-Veränderungen erkennen. Tatsächlich wurden unzählige Mikrobiom-Assoziationsstudien mit einer Vielzahl von Krankheiten in den letzten Jahren publiziert. Da diese sich oft auf geringe Patientenzahlen stützen, ist nicht in allen Fällen gesichert, dass die Ergebnisse auch reproduzierbar sind. Der statistischen Methodik für solche Studien kommt daher eine Schlüsselrolle zu. Ein ganzes Instrumentarium an solchen statistischen Werkzeugen, speziell für die Mikrobiomanalyse, haben Forscher des EMBL als Paket auf der R/Bioconductor-Plattform zur Verfügung gestellt. Dieses SIAMCAT genannte Softwarepaket ermöglicht die genaue statistische Auswertung von Mikrobiom-Assoziationsstudien unter Berücksichtigung möglicher anderer Einflüsse (technischer Art, aber auch bei unterschiedlicher Herkunft, Ernährungsweise etc. der Probanden), die ansonsten zu fälschlichen Krankheitsassoziationen führen könnten.

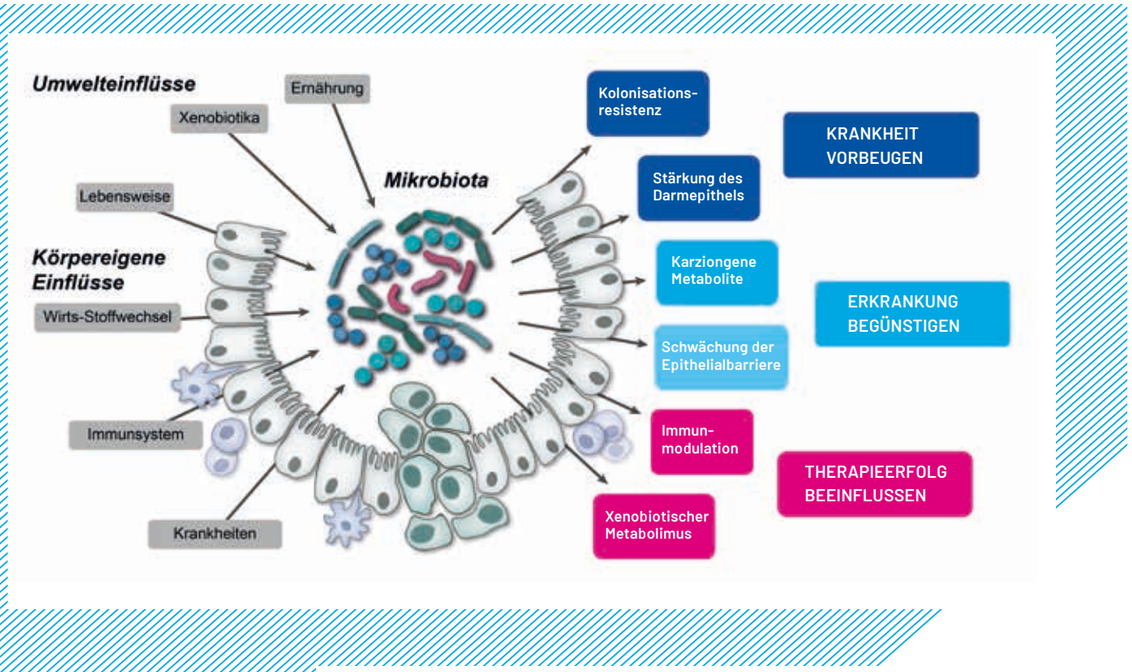


ABBILDUNG 2: Das Darmmikrobiom wird durch zahlreiche Umwelt- und Wirtsfaktoren beeinflusst. Diese Einflüsse können Veränderungen im Mikrobiom bewirken, die krankheitsfördernde Effekte oder Auswirkungen auf den Behandlungserfolg durch Medikamente haben können. Aufgrund seiner Individualität stellt das Darmmikrobiom also einen Individuum-spezifischen Risikofaktor in der Krankheitsentstehung und für therapeutische Komplikationen dar.

Die statistische Auswertung vieler Mikrobiom-Assoziationsstudien und weitergehender Untersuchungen an Tiermodellen hat bisher vor allem eines klargemacht: Es kommt auf die genaue Zusammensetzung des Mikrobioms an. Denn während die mikrobielle Artenvielfalt meist positiv ist, können einzelne Mikroben Krankheitsverläufe beschleunigen und die Medikamentenwirkung sowie Nebenwirkungen beeinflussen.

MIKROBIELLE BIOMARKERFORSCHUNG

Im Fall von Darmkrebs haben Forscher am EMBL in mehreren Veröffentlichungen gezeigt, dass sich anhand der Zusammensetzung des Darmmikrobioms Tumorpatienten von krebsfreien Probanden unterscheiden lassen. Ein kürzlich in der renommierten Fachzeitschrift „Nature Medicine" veröffentlichter Artikel veranschaulicht, wie die oben beschriebenen Konzepte und bioinformatischen Werkzeuge kombiniert werden können, um Veränderungen des Darmmikrobioms bei Darmkrebspatienten im Detail aufzuklären. Die Wissenschaftler des EMBL um Georg Zeller und ihre internationalen Forschungspartner beschreiben dort in einem studienübergreifenden Vergleich (Meta-Analyse) stark erhöhte Vorkommen von 29 Bakterienarten in den Darmkrebspatienten der acht untersuchten Studien [3] (Abbildung 1). Ihre Ergebnisse verdeutlichen, dass die Variabilität in der Zusammensetzung des menschlichen Darmmikrobioms nicht ausschließlich von externen Faktoren wie Ernährung und Lebensweise abhängt, sondern bestimmte Arten von Bakterien in Darmkrebspatienten grundsätzlich in größeren Mengen als in der gesunden Bevölkerung vorzufinden sind; diese sind also prinzipiell als mikrobielle Krebs-Biomarker global einsetzbar. Ein entsprechendes diagnostisches Verfahren zur Krebsfrüherkennung (nicht-invasives Darmkrebs-Screening) befindet sich aktuell in der klinischen Erprobung.

Ferner gibt eine detaillierte Analyse der mikrobiellen Genfunktionen in Darmkrebs-Metagenomdaten Aufschluss darüber, welche Stoffwechselprodukte in Krebspatienten angereichert sind. Dabei fanden die Forscher am EMBL heraus,

DIE ERFORSCHUNG DES MENSCHLICHEN MIKROBIOMS GIBT AUFSCHLUSS ÜBER
DIE ENTSTEHUNG VON KRANKHEITEN UND ERÖFFNET NEUE BEHANDLUNGSWEGE
HUMANE BIOINFORMATIK

dass die Stoffwechselwege zum Abbau von fett- und fleischhaltigen Nahrungsmitteln und zur Synthese krebserregender sekundärer Gallensalze in den Patientenproben in deutlich höheren und gleichzeitig die zum Abbau von pflanzlichen Kohlenhydraten aus Ballaststoffen in geringeren Mengen vorzufinden sind als in Proben von gesunden Menschen.

Diese Erkenntnisse über das Darmmikrobiom sind mit epidemiologischen Studien zu Ernährungsrisiken für die Darmkrebsentwicklung konsistent und könnten zukünftig zu verbesserten Ansätzen in der personalisierten Krebsprävention weiterentwickelt werden.

Entwicklung von nicht-invasiven und genauen Methoden zur Früherkennung von Darmkrebs.

AUSBLICK

Obwohl die Mikrobiomforschung erst am Anfang steht, macht sie große Hoffnungen auf die Verbesserung von Gesundheit und Wohlbefinden.

Das menschliche Mikrobiom ist ein hochaktuelles Thema, dem sich weltweit zahlreiche Forscher widmen. In den letzten Jahren wurde immer deutlicher, welch vielfältige Einflüsse die mikrobiellen Mitbewohner auf unseren Körper haben. Sie lenken das Immunsystem, wandeln Medikamente chemisch um oder steuern das Sättigungsgefühl. Um Nichtwissenschaftler an diesem Erkenntnisprozess teilhaben zu lassen, wurde von EMBL-Forschern um Peer Bork die Studie my.microbes initiiert, die durch eine große Probandenzahl aus der allgemeinen Bevölkerung zu einem besseren Verständnis der Wechselwirkung zwischen dem Menschen und seinem Mikrobiom beitragen soll [4].

Langfristig erhofft man sich, die Erkenntnisse über das Darmmikrobiom gezielt zur Krankheitsprävention und personalisierten Therapie einsetzen zu können. So wurde die Zusammensetzung des Darmmikrobioms bereits als wichtiger Faktor für den Erfolg von Immuntherapien bei Krebspatienten erkannt. Obwohl noch wenig bekannt ist, über welche molekularen Mechanismen die Mikrobiota eine Immunaktivierung erreicht, laufen bereits klinische Studien, die darauf abzielen, das Darmmikrobiom zu verändern, um Immuntherapien wirksamer zu machen [5].

Als weiterer Meilenstein in der Mikrobiomforschung gilt die Erkenntnis, dass nicht nur Antibiotika die nützliche mikrobielle Gemeinschaft in unserem Darm aus dem Gleichgewicht bringen können; andere Medikamente haben einen ähnlichen Effekt, wie eine Studie von EMBL-Wissenschaftlern um Peer Bork zeigt [6]. Demnach hemmt jedes vierte der mehr als 1.000 untersuchten Medikamente aus sämtlichen nicht antibiotischen Wirkstoffklassen das Wachstum unserer Darmbakterien – vom Entzündungshemmer bis zum Antipsychotikum.

Mikrobiomforschung ist ein junges – und hochgradig interdisziplinäres – Forschungsgebiet, in dem die Bioinformatik eine Schlüsselrolle einnimmt. Das schnell und stetig wachsende Volumen und die Komplexität der Forschungsdaten erfordern immer leistungsfähigere bioinformatische Algorithmen und Softwareprogramme, die zunehmend Entwicklungen im Bereich der Künstlichen Intelligenz und des maschinellen Lernens aufgreifen. Dieses Potenzial für intelligente Analysen auszuschöpfen, verspricht weitere rapide Fortschritte bei der Entschlüsselung der komplexen Wechselwirkungen zwischen dem menschlichen Organismus und seinen mikrobiellen Bewohnern.

REFERENZEN [1] Dtsch. Med. Wochenschr. 142:267-274. DOI: 10.1055/s-0043-124940. **[2]** N Engl J Med. 2016 Dec 15;375(24):2369-2379. DOI: 10.1056/NEJMra1600266. **[3]** Nat Med. 2019 Apr;25(4):679-689. DOI: 10.1038/s41591-019-0406-6. **[4]** http://my.microbes.eu **[5]** Nat Med. 2019 Mar;25(3):377-388. DOI: 10.1038/s41591-019-0377-7. **[6]** Nature. 2018 Mar 29;555(7698):623-628.DOI: 10.1038/nature25979.

AUTOREN Ulrike Trojahn[1], Jakob Wirbel[1], Peer Bork[1], Georg Zeller[1]
[1] *European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Meyerhofstraße 1, 69117 Heidelberg*