

So fühlt sich das Leben für ein Schmetterlingskind an.

Nichts ist so verletzlich wie die Haut von Schmetterlingskindern. Die Ursache dafür ist Epidermolysis bullosa, eine bislang unheilbare, schmerzvolle Hautkrankheit. Spenden unter PSK 90.000.096 oder www.schmetterlingskinder.at



Tätigkeitsbericht 2010

**DEBRA Austria,
Interessengemeinschaft Epidermolysis bullosa
und Verein zur Förderung der EB-Forschung**

Inhalt

1	Vorwort des Obmanns	3
2	Epidermolysis bullosa – was ist das?	4
3	Wer ist DEBRA Austria?	5
3.1	Vereine DEBRA Austria	5
3.2	Organisation.....	5
3.3	Ziel und Aufgabenstellungen.....	6
3.4	EB-Haus Austria	6
4	Ambulanzbericht	8
4.1	Übersicht.....	8
4.2	Patientenversorgung und klinisch-angewandte Projekte 2010.....	9
4.2.1	Fingerkontrakturen und -verwachsungen.....	9
4.2.2	Bewegung und Sport	10
4.2.3	Schmerz und Juckreiz.....	10
5	Forschungsbericht	12
5.1	Übersicht.....	12
5.2	Forschungsrückblick auf 2010	12
5.3	Forschungsprojekte 2010.....	14
5.3.1	Gentherapie – Spliceosome Mediated RNA Trans-Splicing (SMaRT)	14
5.3.2	Immunologische Toleranz.....	21
5.3.3	Krebstherapie für Patienten mit dystropher EB (Dr. Christina Gruber).....	23
5.3.4	Wundheilung und Narbenbildung (Mag. Jenny Breitenbach).....	23
5.3.5	Entschlüsselung molekularer Mechanismen von EB simplex (Mag. Martin Wagner)...	24
5.3.6	Mutationsanalysen, Analyse der Genveränderungen (Mag. Alfred Klausegger).....	25
5.4	Publikationen	25
6	Akademiebericht	27
6.1	Übersicht.....	27
6.2	Aus- und Weiterbildung.....	28
6.3	Fundraising und Public Relations.....	30
6.4	Vernetzungsarbeit.....	33
6.4.1	Lokale und nationale Aktivitäten	33
6.4.2	EU-Aktivitäten	33
6.4.3	Internationale Kooperationen	35
6.5	EB-Register Austria	36
6.6	Interessenten- und Spenderbetreuung.....	37
6.7	Mütter-, Väter-/Männer- und Familienwochenenden.....	38
6.8	Das 15. Jahrestreffen von DEBRA Austria.....	39
7	Finanzen	40
7.1	Gewinn- und Verlustrechnungen 2010.....	40
7.2	Haushaltspläne 2011	41

1 Vorwort des Obmanns

Mit großer Freude und Dankbarkeit blicke ich auf ein erfülltes und erfolgreiches Jahr 2010 zurück. Auch im abgelaufenen Jahr ist es gelungen, die medizinische Versorgung der „Schmetterlingskinder“ aufrechtzuerhalten und schrittweise auszubauen. Sehr erfreulich sind auch die vielen kleineren und größeren Erfolge in der Forschung, denn sie sind Voraussetzung für den Weg zur Heilung. Dies alles kommt den von Epidermolysis bullosa (EB) betroffenen Menschen zu Gute und lässt uns alle mit Hoffnung in die Zukunft blicken.

Besonders wichtig für Betroffene der EB ist einfühlsame und kompetente ärztliche Versorgung. Unter der Leitung von Dr. Anja Diem hat sich im EB-Haus Austria ein Team – bestehend aus zwei EB-Ärztinnen und zwei Krankenschwestern zusammengefunden, das nicht nur Behandlung, Beratung und Betreuung der rund 500 österreichischen Betroffenen bestens abwickelt, sondern darüber hinaus auch für Patienten aus umliegenden Ländern zur Verfügung steht. Die steigende Frequenz von EB-Visiten aus ganz Europa und der Anstieg von Anfragen per E-Mail und Telefon zeigen, dass sich das EB-Haus Austria schrittweise als Center of Expertise im Bereich EB etabliert. Wichtig für die laufende Verbesserung therapeutischer Möglichkeiten ist die enge Vernetzung mit EB-Zentren und EB-Spezialisten aus aller Welt aber auch mit Experten aus anderen medizinischen Disziplinen.

Da EB derzeit noch als unheilbar gilt, verlagert sich der Schwerpunkt unserer Aktivitäten zunehmend in den Bereich der Forschung. Die Ergebnisse der letzten Monate bestärken uns in der Vision *Heilung ist möglich!* Unter der Leitung von Prof. Dr. Johann Bauer arbeitet im EB-Haus ein engagiertes Team an den Themen Wundheilung und Narbenbildung, Gentherapie, Immuntoleranz, Krebstherapie, Therapeutische Proteinmodifikation und Small Molecules. Zahlreiche wissenschaftliche Publikationen und Auszeichnung zeigen die Leistungsfähigkeit dieser Forschungsgruppe und machen zuversichtlich, dass Heilung für die „Schmetterlingskinder“ in absehbarer Zeit möglich wird. Allerdings wird ein Durchbruch in der EB-Forschung wohl nur in enger Zusammenarbeit mit den weltweit besten EB-Forschern gelingen – vernetzen und Kräfte bündeln heißt auch hier das Gebot der Stunde.

Unter der Leitung von Dr. Gabriela Pohla-Gubo wurde im Rahmen der Tätigkeiten der EB-Akademie die hauseigene Expertise an zahlreiche Ärzte, Wissenschaftler und Praktiker aus dem In- und Ausland weiter gegeben. Damit soll die Betreuung von EB-Betroffenen vor Ort gestärkt werden. Im Gegenzug konnte von den eingeladenen EB-Experten wertvolle Erfahrungen gewonnen und so der Weg zu einem europäischen bzw. weltweiten Netzwerk von EB-Zentren fortgesetzt werden.

Versorgung, Forschung und Ausbildung als unmittelbare Hilfe für Betroffene und ihre Familien sind die wesentlichen Ziele der beiden Vereine DEBRA Austria, die nur mit Hilfe vieler großzügiger Spender umsetzbar waren und sein werden. Im Sinne der „Schmetterlingskinder“ bedanke ich mich dafür sehr herzlich!

Herzlich, Ihr



Rainer Riedl
Obmann DEBRA Austria und betroffener Vater

2 Epidermolysis bullosa – was ist das?

Epidermolysis bullosa (kurz: EB) ist eine folgenschwere, erblich bedingte und derzeit noch nicht heilbare Hauterkrankung. Bei EB kommt es bereits nach geringsten Belastungen der Haut zu Blasen- und Wundbildung am ganzen Körper. Diese charakteristischen Krankheitsmerkmale sind aber nicht nur auf die äußere Haut beschränkt. Blasen, Wunden und Narben treten auch an den Schleimhäuten der Augen, im Mund, in der Speiseröhre, im Magen-Darmtrakt, Urogenitaltrakt, in den Atemwegen oder der Lunge auf.

EB umfasst eine Gruppe klinisch und genetisch unterschiedlicher Erkrankungen und bedeutet je nach Typ und Verlauf eine mehr oder weniger schwere Beeinträchtigung des täglichen Lebens. Zu den Begleitumständen der EB zählen tägliche Schmerzen durch offene Wunden, quälender Juckreiz, Narbenbildung, Verwachsungen der Finger und Zehen, schwere Karies mit häufigem Zahnverlust, Ernährungs- und Verdauungsprobleme sowie fallweise aggressive Hauttumoren.



Abb. 1: Das Krankheitsbild der Epidermolysis bullosa hereditaria

Das Leben der Betroffenen, die mittlerweile unter dem Begriff „Schmetterlingskinder“ bekannt geworden sind, ist oft schmerzvoll und mühsam, bei manchen Formen der EB ist auch die Lebenserwartung erheblich verkürzt.

In Österreich leiden etwa 500 Menschen an EB, in Europa sind ungefähr 30.000 Personen von der Erkrankung betroffen. Die medizinische Versorgung für Patienten mit EB erfordert multidisziplinäre Netzwerke, die vielfach nicht gegeben sind. Die Wahrscheinlichkeit für erfolgreiche Therapieansätze nimmt nun schrittweise zu, die vorliegenden nationalen und internationalen Forschungsergebnisse stimmen sehr optimistisch. Ausreichende Geldmittel vorausgesetzt, darf mit der allgemeinen Verfügbarkeit einer Heilungsmethode innerhalb der nächsten Jahre gerechnet werden. Auch in Österreich konnten, dank der finanziellen Förderung durch die Selbsthilfeorganisation DEBRA Austria, viel versprechende Forschungsprojekte gestartet und eine Reihe von interessanten Ergebnissen erzielt werden.

3 Wer ist DEBRA Austria?

3.1 Vereine DEBRA Austria

DEBRA Austria, Interessengemeinschaft Epidermolysis bullosa wurde 1995 als Selbsthilfegruppe von Betroffenen, Eltern von betroffenen Kindern und Ärzten mit dem Ziel gegründet Erfahrungsaustausch und Hilfe für Betroffene zu organisieren. DEBRA Austria, Verein zur Förderung der Epidermolysis bullosa-Forschung wurde 1997 gegründet, um die Forschung auf der Suche nach Heilungsmethoden für EB voranzutreiben. Den Betroffenen zeitgemäße medizinische Versorgung zu ermöglichen und Hoffnung auf Heilung oder zumindest wesentliche Linderung zu bringen, ist die gemeinsame Mission.

3.2 Organisation

Beide Vereine DEBRA Austria sind gemeinnützig und mildtätig aktiv. Derzeit agieren Vorstand, Beiräte und Kassenprüfer für beide Vereine in Personalunion.

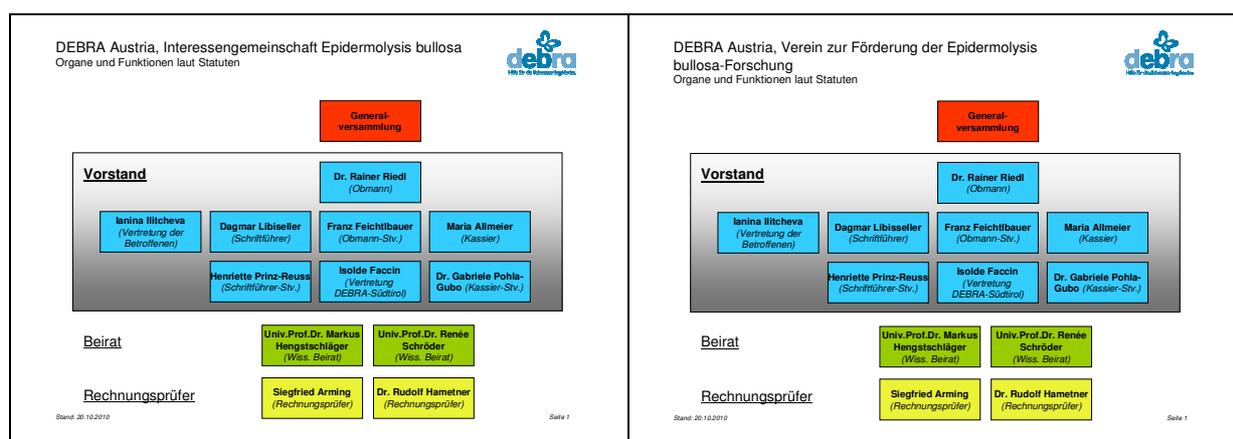


Abb. 2: Organigramme der beiden Vereine

Neben den „offiziellen“ Funktionen laut Statuten wurden und werden folgende Aufgaben wahrgenommen: Geschäftsführung der beiden Vereine: Dr. Rainer Riedl; Marketing und Öffentlichkeitsarbeit: Ulla Epler; Spenderbetreuung: Patricia Santo-Passo; Mitgliederhilfe: Henriette Reuss; Mitgliederbetreuung, Vereinszeitung und Wartung der Websites: Dagmar Libiseller. Büroorganisation und Korrespondenz: Sabine Vranckx. In der abgelaufenen Periode hatte in der täglichen Arbeit die Sicherstellung des Betriebs des EB-Hauses Austria (Personal und Sachkosten) sowie die Mittelaufbringung für die EB-Forschung oberste Priorität. Kommunikation, Events und Spendenwerbung galten dem Ziel, die medizinische Versorgung sicherzustellen und Linderungs- und Heilungsmethoden für EB zu erforschen.

3.3 Ziel und Aufgabenstellungen

Ziel der Vereine *DEBRA Austria*, *Interessengemeinschaft Epidermolysis bullosa* und *DEBRA Austria, Verein zur Förderung der Epidermolysis bullosa-Forschung* ist es einerseits die Versorgung der Betroffenen, der so genannten „Schmetterlingskinder“ zu ermöglichen, zu verbessern und sicherzustellen und – darüber hinaus – den Erfahrungsaustausch unter den Betroffenen zu fördern. Andererseits soll die Forschung zur Entwicklung einer Heilungsmethode für EB bzw. zur Linderung der Erkrankung und ihrer teilweise sehr folgenschweren Nebenwirkungen etabliert und gefördert werden.



Abb. 3: DEBRA Austria und die „Schmetterlingskinder“

3.4 EB-Haus Austria

In den Berichtszeitraum fällt der fünfte Geburtstag des EB-Hauses. Dieses erfreuliche „Jubiläum“ zeigt, dass es nicht nur gelungen ist, das Haus zu errichten und erste Schritte zu tun, sondern dass es auch belebt ist und genutzt wird. Betroffene aus allen Regionen Österreichs und – mittlerweile auch aus angrenzenden Ländern – kommen zu Behandlungen und Beratungen nach Salzburg.



Abb. 4: Außen- und Innenansicht des EB-Haus Austria

Die primären Ziele der Tätigkeiten im EB-Haus waren und bleiben auch weiterhin:

- Zukunftsorientierte medizinische Versorgung und Verbesserung der Lebensqualität EB-Betroffener in der **EB-Ambulanz** (Leitung Dr. Anja Diem)
- Forschung zur erfolgreichen Behandlung der EB durch Gentherapie im **EB-Labor** (Leitung Prof. Dr. Johann Bauer)
- Zukunftsorientierte Aus- und Weiterbildung all jener, die sich mit der Problematik der EB und anderer Genodermatosen (angeborener Hauterkrankungen) beschäftigen (Betroffene und deren Angehörige, Ärzte, Therapeuten, Pflegepersonal, Wissenschaftler) in der **EB-Akademie** (Leitung Dr. Gabriela Pohla-Gubo)

4 Ambulanzbericht

4.1 Übersicht

Das Ambulanzteam besteht derzeit aus Dr. Anja Diem (Leitung, 25h), Dr. Katharina Ude-Schoder (20h), DGKS Manuela Langthaler (20h) und DGKS Alexandra Waldhör (15h). Dieses Team wird von Frau Sabine Unger (30h) und Praktikantinnen (ein Tag pro Woche von Oktober bis Mai) in administrativer Hinsicht (Patientenanmeldungen, Dokumentation, Korrespondenz, Kontakte etc.) unterstützt.

Die Arbeitsschwerpunkte von Dr. Anja Diem sind Patientenbetreuung, Angehörigenberatung, genetische Beratung, Erhaltung und Ausbau des Therapeutennetzwerkes an den Salzburger Landeskliniken sowie in letzter Zeit zunehmend die Beratung von Therapeuten in anderen EB-Beratungseinrichtungen europaweit. Dr. Katharina Ude-Schoder arbeitet vorrangig in der Patientenbetreuung und Ernährungsberatung sowie an der Erstellung von Informationsbroschüren für Betroffene. DGKS Manuela Langthaler hat ihren Schwerpunkt im Wundmanagement und in der Pflegeberatung, während sich DGKS Alexandra Waldhör sowohl in der Pflegeberatung als auch bei der Beschaffung von Information über neue Wundpflegeprodukte engagiert.

Darüber hinaus arbeitet das medizinische Team eng mit einem Therapeutennetzwerk, bestehend aus verschiedenen Fachspezialisten der Salzburger Landeskliniken, und niedergelassenen Ärzten zusammen. Diese bilden miteinander die Basis für eine interdisziplinäre Betreuung der EB-Betroffenen. Die finanzielle Unterstützung vieler Spender macht es möglich, auch therapeutische Interventionen anzubieten, die an den Salzburger Landeskliniken in diesem Ausmaß nicht angeboten werden können. Beispiele hierfür sind ausführliche Wahrnehmungsbefundungen im Bereich der Physio- und Ergotherapie, psychologische Beratung und spezielle Zahnsanierungen (bei Kindern).

Im Berichtszeitraum wurden 196 ambulante Untersuchungen, 23 stationäre Aufnahmen und 154 stationäre Tage verzeichnet. Nicht nur Betroffene aus Österreich sondern auch Patienten aus insgesamt 15 Ländern wurden beraten und medizinisch versorgt. Im vergangenen Jahr wurden in der EB-Ambulanz 25 Patienten neu registriert. Im Vergleich zum Vorjahr ist vor allem ein Anstieg der stationären Tage zu verzeichnen, was darauf zurückzuführen ist, dass die Anzahl komplexer Eingriffe (Handoperationen, Hautkrebs) stark gestiegen ist.



Abb. 5: Links – das Ambulanz-Team im EB-Haus Austria; rechts – Dr. Anja Diem im Einsatz

Die gemeinsam mit dem Vorstand von DEBRA definierten 25 klinischen Projekte wurden im Jahr 2010 abgeschlossen. Obwohl eine Reihe von wichtigen Erkenntnissen gewonnen werden konnte, muss man leider auch feststellen, dass in vielen Fällen keine „endgültige“ Lösung gefunden wurden. Solange keine ursächliche Heilung für EB zur Verfügung steht, kann das auch nicht erwartet werden. Eine Linderung der Symptome der Erkrankung und ein Zugewinn an Wissen sind hier die wesentlichen Ziele des EB-Ambulanzteams.

4.2 Patientenversorgung und klinisch-angewandte Projekte 2010

4.2.1 Fingerkontrakturen und -verwachsungen

Trotz aller Bemühungen und Verbesserungen in den letzten Jahren ist das Problem der Fingerkontrakturen und -verwachsungen nach wie vor ungelöst. Sämtliche konservativen Maßnahmen, also solche, die von außen die Beugung und Verwachsung der Finger verhindern oder zumindest hinauszögern sollen, wurden ausgeschöpft. Die bestehende Expertise auf diesem Gebiet wurde in Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik für Physikalische Medizin an den Salzburger Landeskliniken in einer Ergotherapiebroschüre zusammengefasst. Auch die operativen Maßnahmen sind gut durchführbar, jedoch mit Schmerzen und langwierigen Nachbehandlungen verbunden. Die Ergebnisse sind meist zufriedenstellend, allerdings nicht ganz so optimistisch einzustufen, wie das erhofft worden war. Leider kommt es bereits nach kurzer Zeit wieder zu den bekannten Problemen.

Um hier einen neuen, wirksamen Therapieansatz zu finden, wäre es wichtig, die Ursache dieser Probleme genauer zu untersuchen. Die Erfahrung zeigt, dass die Kontrakturen kaum alleinige Folge von zu wenig Bewegung und von Narben sein können. Das Gewebe in dem Bereich ist

kein Narbengewebe und die Immobilisation zunächst (im Kleinkindalter) bei den meisten Betroffenen noch kein großes Problem. Daher ist für 2011 geplant, ein gemeinsames Forschungsprojekt mit Experten anderer Abteilungen an der Salzburger Landeskliniken und dem Forschungsteam im EB-Haus aufzusetzen, um den Ursachen für Fingerkontrakturen und -verwachsungen auf den Grund zu gehen und neue Therapieansätze dafür zu finden.

4.2.2 Bewegung und Sport

Bewegung und Sport wären für EB-Betroffene in vielerlei Hinsicht positiv, ja geradezu lebensnotwendig. Da dies aber naturgemäß mit Gefahren verbunden ist, besteht seitens der Betroffenen und Eltern große Unsicherheit bezüglich der tatsächlichen Möglichkeiten. Die Erfahrungen zeigen, dass überraschend vieles möglich ist. Im Rahmen dieses Vorhabens wurden erste Erfahrungen gesammelt und EB-Betroffenen zugänglich gemacht. Wichtigstes Ziel hierbei: Mut machen auf mehr Bewegung. So soll eine Verbesserung der physischen und der psychischen Konstitution, mehr Selbstvertrauen und eine Verbesserung der Lebensqualität insgesamt erreicht werden. Darüber hinaus sind durch den Abbau der Bewegungsarmut positive Auswirkungen für den Knochenaufbau und die Vermeidung von Folgeschäden zu erwarten.

Im Berichtszeitraum konnten bei diesem Projekt erste Schritte gesetzt werden. Für das kommenden Jahr sind Unterlagen geplant, die entsprechende Anleitungen für EB-Betroffene enthalten werden und ihnen auf diesem Weg Mut machen sollen, die eigenen Grenzen in diesem Bereich zu erweitern. Klare Handlungs-/Übungsempfehlungen sollen Unsicherheiten abbauen und so schrittweise das körperliche und seelische Wohlbefinden verbessern, objektiv und subjektiv. Darüber hinaus sollen mit diesen Empfehlungen auch betreuende Personen, wie Eltern und Pädagogen, mehr Sicherheit gewinnen im Umgang mit den Möglichkeiten und Grenzen, die Bewegung und Sport für Menschen mit EB bieten.

4.2.3 Schmerz und Juckreiz

Schmerz und Juckreiz sind bei EB leider ein Dauerthema, das Betroffene begleitet solange es keine kausale Heilung gibt. Trotz großer Bemühungen zeigen die Analysen, dass beide Probleme für beinahe alle Betroffenen immer noch unbefriedigend bzw. gar nicht gelöst sind. Obwohl es im Bereich der Verbandsmaterialien in den letzten Jahren deutliche Verbesserungen gab und somit merkbare Rückwirkungen auf das Schmerzempfinden zu verzeichnen waren, hat sich diese positive Entwicklung in letzter Zeit verlangsamt. Im Bereich der Schmerztherapie sind Dauermedikationen auf Grund von möglichen oder tatsächlichen Nebenwirkungen keine Langzeitalternative, andere Maßnahmen sind meist zeitaufwändig oder kostenintensiv. Auch

wenn im EB-Haus-Team der Eindruck herrscht, dass einiges verbessert werden konnte (z.B. durch Verwendung von Ibuprofen, Tramal, LLLaser, bei Babys durch richtiges Wundmanagement), ist bei diesem Thema in letzter Zeit eine gewisse Stagnation eingetreten.

Klares Ziel ist, noch einmal alle Möglichkeiten für therapeutisch Ansätze (national und international) zu prüfen, um neue bzw. ergänzende Ansätze für die Behandlung dieser schwerwiegenden Probleme zu finden und so die für viele Betroffenen erheblichen Beeinträchtigungen abzuschwächen.



Abb. 6: Dr. Anja Diem, Leiterin der Ambulanz im EB-Haus, und ein fröhliches „Schmetterlingskind“

Auch im kommenden Jahr wird sich das Ambulanzteam einer Vielzahl von Projekten widmen, die eine konkrete Verbesserung der medizinischen Versorgung zum Ziel haben. Auch wenn bei manchen Themen gewisse Grenzen erreicht scheinen, soll die Suche nach neuen Wegen mit vollem Elan weiterlaufen. Hierzu gehört unter anderem auch die Verbesserung der Krebsvorsorge. Nach wie vor ist und bleibt die Früherkennung von Hautkrebs die wichtigste Maßnahme im Kampf mit dieser lebensbedrohenden Gefahr für die „Schmetterlingskinder“.

5 Forschungsbericht

5.1 Übersicht

Die Forscher im Labor des EB-Hauses Austria bedienen sich – unter der Leitung von Prof. Dr. Johann Bauer – neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse aus dem Bereich der molekularen Medizin, um zwei Ziele zu erreichen:

1. Linderung der Symptome der Epidermolysis bullosa (EB)
2. Langfristige und sichere Heilung für EB mittels Gentherapie

Bis dato gibt es für EB-Betroffene keine befriedigende Therapieform zur Behandlung der Ursache. Die Therapie ist derzeit auf die Versorgung der Folgen beschränkt. Zwar wurde bereits durch Prof. Mavilio und Prof. DeLuca im Jahr 2006 gezeigt, dass der Ansatz einer ex vivo-Gentherapie an der Haut erfolgreich sein kann, allerdings wurde bisher nur ein Patient mit einer bestimmten EB-Form behandelt. Trotz intensiver Forschung weltweit gibt es bei dieser Therapieform noch Faktoren, welche die Anwendung an vielen EB-Patienten erschweren.

Ziel der Forschungsarbeit der Forschungsgruppe im EB-Haus Austria ist es, diese ex vivo-Gentherapie zu verbessern und weiterzuentwickeln, sodass eine Heilung für alle EB-Betroffenen möglich wird. Als Folge einer Anwendung dieser Form der Gentherapie wird sich die Haut der Patienten verbessern, es werden weniger sekundäre Komplikationen wie Infektionen, Hautkrebsentwicklung und Anämie zu sehen sein. Die Forscher des EB-Hauses bedienen sich einer speziellen Methode (SMaRT), welche gegenüber der DeLuca-Methode den Vorteil aufweist, dass sie bei allen EB-Formen anwendbar ist.

Ein weiterer Fokus der Forschung im EB-Haus Austria ist die Ausarbeitung einer Immuntoleranz als vorbereitende Maßnahme einer Gentherapie für Patienten, denen ein Protein in der Haut komplett fehlt. Hier wird nach Möglichkeiten gesucht, das Immunsystem des EB-Patienten so vorzubereiten, dass es nicht auf das neue und somit fremde Protein reagiert. Damit wird eine Abstoßung der transplantierten Haut verhindert. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Erforschung von Ursachen und möglichen Behandlungsansätzen für die Begleiterscheinungen von EB, wie zum Beispiel das erhöhte Risiko einer Krebsentstehung, extensive Narbenbildung und Wundheilungsstörungen.

5.2 Forschungsrückblick auf 2010

Getragen vom Schwung der Neueinwerbung von wichtigen Drittmittelprojekten im Jahr 2009 konnten wir unsere Hauptforschungsrichtungen der Entwicklung einer Gentherapie für alle For-

men der EB (rezessiv vererbte und dominant vererbte), Induktion einer immunologischen Toleranz, Krebstherapie für EB-assoziierten Hautkrebs sowie für die Wundheilungsforschung zügig voran treiben.

Als Gradmesser für die Qualität der Forschungsarbeiten konnten nun – fünf Jahre nach Eröffnung des EB-Hauses – wichtige Arbeiten in internationalen Journalen publiziert werden. Diese umfassen die erstmalige Beschreibung der Gentherapie für dystrophe EB mittels Genschere-Technologie mit der Erstautorin Dr. Eva Murauer. Diese Arbeit konnte im August 2010 im renommierten „Journal of Investigative Dermatology“ publiziert werden. Kurz darauf folgte die Arbeit von Dr. Verena Wally zur Genkorrektur bei dominant vererbter EB simplex. Bei diesen Formen sind die üblicherweise angewandten cDNA-Gentherapieverfahren nicht zielführend. Daher wurde auch hier die Genschere-Technologie erfolgreich eingesetzt. Beide Arbeiten wurden vom wissenschaftlichen Ausschuss der österreichischen Gesellschaft für Dermatologie und Venerologie bei der Jahrestagung 2010 in Wien mit dem großen Dermatologenpreis (Unilever Preis) prämiert. Dr. Christina Gruber konnte ihre Arbeit zur Therapie der Hautkrebsformen bei EB noch am 23. Dezember im Journal „Molecular Cancer Therapeutics“ akzeptieren lassen. Diese drei Arbeiten legen eine wichtige Basis für die Umsetzung der Grundlagenforschung in klinische Therapieprojekte.

Weiter fortgeschritten ist auch das Projekt der Neuansetzung der ex vivo-Gentherapie mit dem klassischen Verfahren nach Michele DeLuca. Hier konnte nach umfangreichen Vorbereitungen der Antrag beim wissenschaftlichen Ausschuss für Gentherapie und Genanalyse im Bundeskanzleramt eingereicht werden. Diese Kommission wird zusammen mit der Ethikkommission des Landes Salzburg und dem Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen die rechtlichen Grundlagen für die ex vivo-Gentherapie zusammen mit dem Institut für regenerative Medizin in Modena (Prof. Michele de Luca) im Jahr 2011 legen. So konnten auf verschiedenen Ebenen – Grundlagenforschung und klinisch-angewandte Forschung – wichtige Fortschritte für die Einführung einer Therapieform für EB erzielt werden.

Das EB-Forschungsteam bedankt sich sehr herzlich für die Unterstützung der Forschung im EB-Haus Austria durch DEBRA Austria und hofft – im Sinne der „Schmetterlingskinder“ – auf ein erfolgreiches Jahr 2011.

5.3 Forschungsprojekte 2010

5.3.1 Gentherapie – Spliceosome Mediated RNA Trans-Splicing (SMaRT)

Ziel

Veränderungen in bestimmten Strukturproteinen der Haut können zu EB führen. Derzeit sind zehn solcher Gene bekannt, welche der verschiedenen Subtypen von EB zu Grunde liegen. Diese Haut-Gene sind so groß, dass es schwierig ist, sie in die Zellen zu transportieren. Daher legen wir den Fokus unserer Gentherapieforschung auf die Genreparatur mit Hilfe eines alternativen Ansatzes. Mittels SMaRT können gezielt veränderte Genabschnitte ausgetauscht werden. Dadurch bleibt die Genmenge in der Zelle konstant und das zu liefernde Genmaterial ist leichter zu transportieren, da nur ein Teilabschnitt des Gens eingebracht werden muss.

Da es keine eindeutigen Regeln gibt, wie ein Reparaturmolekül für die bestmögliche Korrektur des jeweiligen Gens aufgebaut sein muss, haben wir eine Auswahlmethode entwickelt, die es uns ermöglicht, aus einer großen Anzahl solcher Reparaturmoleküle (PTMs) die Besten zu isolieren. Hierfür verwenden wir ein Reporter-System, welches mithilfe eines FACS (Fluorescent activated cell sorting)-Gerätes die Zellen mit den besten Reparaturmolekülen identifizieren. Diese können dann für die Behandlung von Patientenzellen adaptiert werden, um eine effiziente und spezifische Behandlung zu ermöglichen. Nach Einbringen der ausgewählten Reparaturmoleküle in Patientenzellen können diese sodann auf deren Funktionalität getestet und die behandelten Zellen mittels verschiedener Verfahren charakterisiert werden, um das Verschwinden bzw. die Reduktion der Krankheitsmerkmale nachzuweisen.

Aktueller Stand

Bisher wurden für mehrere Gene (Plektin, Keratin 14, Kollagen 7, Kollagen 17) Reparaturmoleküle isoliert, die eine sehr hohe Reparaturreffizienz aufweisen und deren Funktionalität in einem Reportersystem bewiesen wurde. Jedes einzelne wurde noch einmal getestet, ehe es für die Behandlung von Patientenzellen adaptiert wurde. Genspezifische Reparaturbausteine wurden in Patientenzellen eingebracht und der Reparaturerefolg auf Gen- und Proteinebene beschrieben. Mithilfe dieser „endogenen PTMs“ konnte bereits der vordere Bereich von Plektin, Keratin 14, Kollagen 7 und Kollagen 17, sowie der hintere Bereich von Kollagen 7 und Kollagen 17 in der Zellkultur in Patientenzellen repariert werden.

Ausblick

a) Retroviren für den Transfer der Genschere: Nach der erfolgreichen Reparatur der oben genannten Strukturproteine mittels SMaRT sollen die entsprechenden PTMs „stabil“ in Patientenzellen eingebracht werden um die Zellen dauerhaft zu therapieren. Hierzu werden Retroviren verwendet, die so verändert sind, dass sie keinen Schaden anrichten können und zu einem sehr hohen Prozentsatz ihr Ziel erreichen. Diese Methode ist die Basis für eine Gentherapie am Menschen. Anhand dieser stabilen Systeme können noch genauere Erkenntnisse über die Funktionalität der PTMs, sowie die Wirkungsweise des verwendeten Virus auf die menschlichen Zellen gewonnen werden. Dies ist von hoher Wichtigkeit um Behandlungen von Patienten möglichst effektiv und vor allem auch sicher zu gestalten.

b) Herstellung von Hautäquivalenten: Der nächste Schritt sind genaue Untersuchungen in einem 3D-Hautmodell. Hierzu lässt man auf einer künstlichen Matrix die korrigierten Hautzellen wachsen und kann anschließend die Eigenschaften der korrigierten Zellen mittels unterschiedlicher Analysen im Labor studieren. In dem künstlichen 3D-Hautmodell kann analysiert werden, ob die korrigierten Strukturproteine wieder vorhanden und an der richtigen Schicht in der Haut positioniert sind.

c) Transplantation von Hautäquivalenten auf Mäuse: Bevor ein Patient behandelt werden kann, bedarf es genauen Untersuchungen in einem möglichst realen Umfeld. Dazu wird die aus den gentherapierten Hautzellen gezüchtete Haut auf Mäuse transplantiert, bei der infolge eines fehlenden Immunsystems keine Abstoßungsreaktion zu erwarten ist. Dies dient dazu, um die Eigenschaften der menschlichen Haut bezüglich Blasenbildung, Festigkeit, korrekte Schichtung und Funktionalität über einen längeren Zeitraum beobachten zu können. Dieses Maus-Versuchsmo- dell stellt einen sehr wichtigen Schritt als Vorbereitung für eine ex vivo-Gentherapie am Men- schen dar.

d) Ablauf ex vivo-Gentherapie am Menschen: Basierend auf diesen Ergebnissen kann eine ex vivo-Gentherapie für EB-Betroffene entwickelt werden. Dabei wird aus der Haut mittels einer Stanzbiopsie eine Probe entnommen. Aus dieser Hautprobe werden Stammzellen der Haut ge- wonnen. Die gewonnenen Stammzellen werden im Labor vermehrt und mit dem Reparatur-Bau- stein versehen um den genetischen Defekt, der zu der erhöhten Verletzlichkeit der Haut führt, auszubessern. Dieses Einfügen erfolgt mit einer speziellen Technik, bei der das fehlende Stück der Erbinformation mittels eines Virus als Transporter in die Zelle eingeschleust wird. Nur so wird dieses fehlende Stück der Erbinformation auch von der Zelle aufgenommen und in die vorhan- dene Erbinformation eingebaut. Mit der nun korrigierten Erbinformation ist die Zelle in der Lage, das Protein, das bisher in der Haut nur fehlerhaft oder gar nicht vorhanden war, und die erhöhte Verletzlichkeit der Haut bedingt hat, nun richtig und voll funktionstüchtig herzustellen. Aus diesen genetisch korrigierten Stammzellen wird dann eine „gesunde“ Haut gezüchtet. Wenn dieses Stück Haut eine passende Größe hat, wird es an eine Stelle des Körpers transplantiert, die von den Folgen der EB besonders betroffen ist, wo also z.B. schwer heilende Wunden vorhanden sind. Dazu wird im Rahmen einer Operation zunächst die kranke Haut an der betroffenen Stelle mit ei- nem speziellen Gerät entfernt, um dann die genetisch korrigierte, gesunde Haut darauf transplan- tieren zu können. Die transplantierten Zellen sollten sich in der natürlichen Umgebung der Haut zu normalen Hautzellen weiterentwickeln, und das bis dato fehlende Eiweiß wieder herstellen. Daher kommt es erstens zur Schließung der Wunde auf den behandelten Hautarealen und zwei- tens hat die „neue“ Haut die Festigkeit von gesunder Haut.

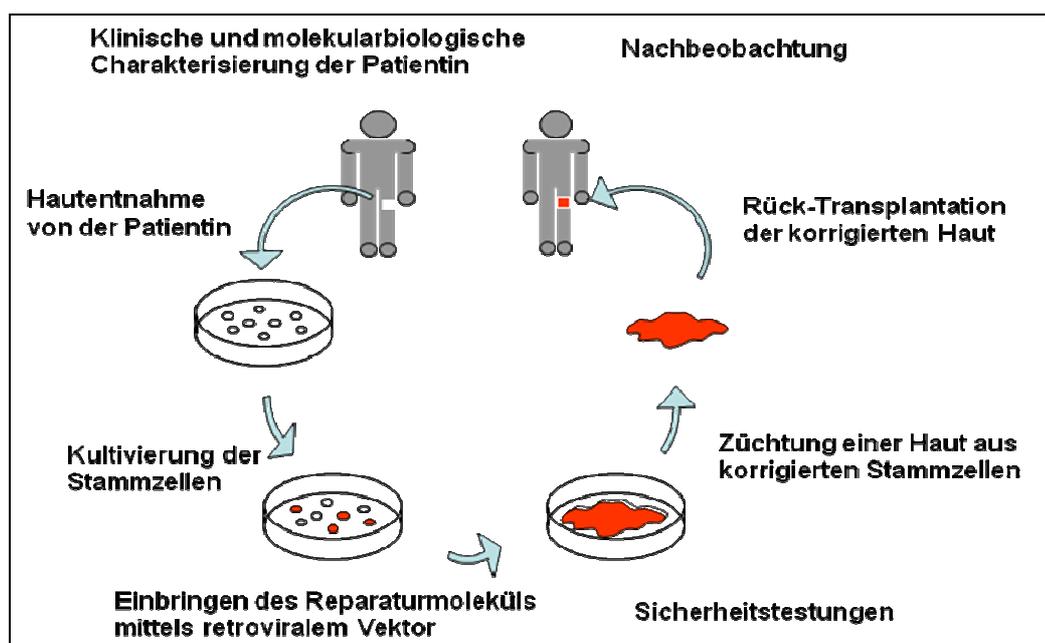


Abb. 7: Vorgehensweise bei der ex vivo-Gentherapie

Projekt 1 (Dr. Verena Wally): Entwicklung einer Genterapie für EB-Patienten – Korrektur im Keratin 14 Gen und Identifikation von alternativen therapeutischen Zielproteinen

Ziel

a) Genterapie für Veränderungen im Keratin 14 Gen:

Keratin 14 ist ein wichtiger Baustein des Zytoskeletts von Hautzellen, welches diesen die nötige mechanische Widerstandskraft verleiht. Durch Veränderungen im Keratin 14 Gen kommt es zur Schwächung der Zellen, was zu Epidermolysis simplex Typ Dowling-Meara (EBS-DM) führt. Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung eines hochfunktionellen Genschermoleküls. Dieses soll sowohl in vitro (also im Reagenzglas), als auch in Versuchen mit Mäusen, denen ein behandeltes Hautstück transplantiert wird, bewiesen werden.

b) Identifikation von alternativen therapeutischen Zielen und Markern:

Veränderungen im Keratin 14 Gen haben auch Auswirkungen auf andere Gene der betroffenen Zellen. Beispielsweise sind Entzündungswege eingeschaltet, deren Behandlung für die Patienten von Nutzen sein kann. Aus diesem Grund werden solche Gene bzw. Signalwege identifiziert und als alternative Angriffsziele für Behandlungen getestet. Dabei werden Patientenzellen mit bekannten Wirkstoffen behandelt um zu sehen, ob es dadurch zu einer Milderung der Ausprägung von Symptomen kommt.

Aktueller Stand

a) Genterapie für Veränderungen im Keratin 14 Gen:

Die aus einem groß angelegten Screen isolierte Genschere wurde für die Behandlung von Patientenzellen adaptiert und getestet. Alle durchgeführten Tests, sowohl auf molekularer als auf funktioneller Ebene, zeigten eine Veränderung der behandelten Zellen in Richtung gesunder Zellen. Die erfolgreiche Reparatur konnte zu einem angemessenen Prozentsatz nachgewiesen werden. Die erhaltenen Daten wurden mittlerweile publiziert (siehe Publikationen).

b) Therapeutischer Effekt von entzündungshemmenden Medikamenten:

Verboril® (Wirkstoff Diacerein) ist ein zugelassenes Medikament, das für die Behandlung von rheumatischer Arthritis eingesetzt wird. Da einige Entzündungswege der rheumatischen Arthritis auch bei EBS-DM zu finden sind, wurde dieses Medikament an Patientenzellen getestet. Der Wirkstoff Diacerein blockiert einen Entzündungsmediator, der für einige der Symptome verantwortlich ist. Die Behandlung der Zellen mit Verboril, aber auch dem reinen Wirkstoff Diacerein und dessen Spaltprodukt Rhein, zeigten eine Veränderung des Eiweißproduktionsmusters in Richtung gesunder Zellen.

Ausblick

a) Genterapie für Veränderungen im Keratin 14 Gen:

Der nächste Schritt in der Applikation der Genschere ist die Untersuchung im Tiermodell. Dazu sollen Patientenzellen mit der Genschere behandelt werden, zu Hautstücken expandiert und auf Mäuse transplantiert werden. Dies soll im Rahmen einer Kooperation mit dem „Ludwig Boltzmann Institut für experimentelle und klinische Traumatologie“ in Wien durchgeführt werden.

b) Therapeutischer Effekt von entzündungshemmenden Medikamenten:

Zur Identifikation von alternativen therapeutischen Zielen und Markern sollen EB-Zellen mit nicht-EB-Zellen in großem Rahmen verglichen werden um molekulare Mechanismen zu identifizieren, die von Relevanz für den Verlauf und die Ausprägung von EB sind. Dabei sollen Gene gefunden werden, die uns erstens Aufschluss über den Erfolg der Therapie geben können (dies ist besonders bei EBS sehr schwierig) und außerdem eventuell Angriffspunkte für alternative Therapiemethoden darstellen, bei denen man eventuell auch schon bekannte Medikamente verwenden kann um zumindest eine Linderung zu erzielen.

Auszeichnungen

Unilever Preis verliehen von der Österreichischen Gesellschaft für Dermatologie und Venerologie für die Publikation „K14 mRNA reprogramming for dominant epidermolysis bullosa“

Kooperationen

- Ludwig Boltzmann Institut für klinische und experimentelle Traumatologie, Wien (Gen-schere an Mäusen)

Projekt 2 (Thomas Lettner, MA): Identifikation von alternativen therapeutischen Zielen und Markern bei EB simplex

Ziel

Im Rahmen meines Projektes arbeite ich daran sogenannte therapeutische Zielstrukturen zu finden, die sich für die Behandlung von Epidermolysis bullosa simplex (EBS)-Betroffenen eignen könnten. Der Begriff „Zielstrukturen“ umschreibt hier alle Gene und die aus ihnen entstehenden Proteine, die sich durch die Behandlung mit Medikamenten positiv beeinflussen lassen. Zu diesem Zweck wurden mittels der SMaRT-Technologie Zelllinien hergestellt, die Veränderungen im Keratin-14 Gen enthalten. Eine der Zelllinien trägt jene Keratin-14 Veränderung, wie sie in EBS Dowling-Meara Betroffenen vorkommt. Eine zweite Zelllinie trägt eine Veränderung, die dazu führt, dass weniger funktionsfähiges Keratin 14 Protein hergestellt wird. In einer dritten Zelllinie soll mittels SMaRT Technologie die Veränderung wieder korrigiert werden. Zusätzlich arbeite ich mit einer Zelllinie die aus einer Hautbiopsie eines Dowling-Meara-Betroffenen gewonnen wurde. Alle Zelllinien, die Veränderungen im Keratin 14 Gen tragen, werden mit Hautzellen (Keratinocyten) verglichen, die aus der Hautbiopsie einer gesunden Person stammen. Die Suche nach therapeutischen Zielen erfolgt sowohl auf Ebene der Genexpression als auch auf Ebene der Proteinexpression. Dabei untersuche ich die Aktivität der Gene (Genexpression) und der Proteine (Proteinexpression) in den Zelllinien die Keratin 14 Veränderungen tragen und vergleiche sie mit der Aktivität der Gene/Proteine in gesunden Hautzellen. Dabei fällt eine ganze Reihe von Genen/Proteinen auf, die in den Zelllinien mit Keratin 14 Veränderungen eine andere Aktivität aufweisen als in der gesunden Zelllinie. Die unterschiedliche Aktivität dieser Gene/Proteine gibt uns zum einen Aufschluss über die molekularen Krankheitsursachen, zum anderen sind sie der Schlüssel für die therapeutischen Maßnahmen die wir entwickeln möchten. Unser Ziel ist es, am Ende dieses Projektes, den behandelnden Ärzten neue Behandlungsmöglichkeiten in die Hand zu geben, um EBS-Betroffenen ein möglichst beschwerdefreies Leben zu ermöglichen.

Aktueller Stand

In einem groß angelegten Experiment, das man als „Microarray“ bezeichnet, wurden sämtliche bekannten Gene des Menschen (insgesamt 26891) untersucht, um festzustellen, welche Gene in den Zellen mit Keratin-14 Veränderungen eine andere Aktivität aufweisen als in gesunden Zellen. Diese Erkenntnisse lieferten uns, in Verbindung mit vielen anderen Laborversuchen, bereits einige Erklärungen für das Verhalten von EBS-Zellen.

Ausblick

Therapeutisch vielversprechende Substanzen werden an den Zelllinien getestet. Dabei wird untersucht, ob sich durch Einsatz dieser Substanzen, das Verhalten von EBS Zellen rückgängig machen lässt und sie wieder die Eigenschaften gesunder Hautzellen annehmen. Neben der Entwicklung von Behandlungsmöglichkeiten arbeite ich, gemeinsam mit meinen Kollegen, selbstverständlich auch weiter daran die molekularen Krankheitsursachen zu enträtseln, denn das eine lässt sich nicht vom anderen trennen.

Projekt 3 (Dr. Ulrich Koller): *Entwicklung einer Gentherapie für EB-Patienten – Optimierung der „Genschere“ für die Korrektur der Gene Kollagen 17 und 7*

Ziel

Der Austausch von veränderten Regionen eines Gens durch die Methode der „Genschere“ (SMaRT) stellt einen potentiellen Therapieansatz für Patienten mit Epidermolysis bullosa (EB) dar. Je nachdem auf welcher Position im Gen sich die genetische Veränderung befindet, kommt ein spezieller Ansatz der „Genschere“ zum Einsatz. Bislang ist es uns erfolgreich gelungen vordere und hintere Genabschnitte mehrerer EB-assoziiierter Gene zu korrigieren. Das Ziel meiner Arbeit im EB-Labor ist die gezielte Korrektur von internen Genregionen der Gene Kollagen 7 und 17. Mit Hilfe dieser speziellen Anwendung der „Genschere“ können sehr kurze Genregionen ausgetauscht werden, wodurch die Reparaturbausteine (PTMs) relativ kurz gehalten werden können. Dies sollte die stabile virale Einbringung der Reparaturbausteine in die Zielzellen, in denen die Korrektur stattfindet, erleichtern. Mit Hilfe eines auf Fluoreszenz basierenden Reparaturmodells sollen eine Vielzahl an PTMs auf ihre Funktionalität hin getestet werden, bevor das beste PTM mittels Gentransporter in EB-Patientenzellen eingebracht wird.

Aktueller Stand

Im Zuge meiner Arbeit im EB-Labor wurde ein auf Fluoreszenz basierendes Reparaturmodell für PTMs entwickelt. Das Reparaturmodell wurde für jeweils einen kurzen Genbereich der Gene Kollagen 7 und 17 angefertigt und erwies sich in Zellkulturexperimente als funktionell. Je nach Korrektoreffizienz der einzelnen PTMs fluoreszierten die behandelten Zielzellen grün. Die Intensität der grünen Fluoreszenz spiegelt dabei die Funktionalität der in den Zellen eingebrachten PTMs wieder.

Ausblick

In weiteren Experimenten soll nun die Reparatureffizienz der über das Reparaturmodell identifizierten PTMs in Patientenzellen ermittelt werden. Für die Einbringung der PTMs in die Patientenzellen sind Retroviren vorgesehen, um eine dauerhafte Korrektur des Gens zu gewährleisten. Über den Virus soll das funktionellste PTM in Patientenzellen eingebracht und die Korrektoreffizienz über zell- und molekularbiologische Techniken eruiert werden. Ein Anstieg der Kollagen 7 bzw. 17 Eiweiß Produktion sollte in den Zellen nach der PTM Behandlung nachweisbar sein. Zusätzlich sollen weitere PTMs über das Reparaturmodell auf ihre Aktivität getestet bzw. die Methode der Genschere weiter optimiert werden. Dabei sollen geringfügige Änderungen an den PTMs durchgeführt werden, um einen Aufschluss auf dessen Einfluss auf die Reparatureffizienz zu erhalten.

Projekt 4 (Dr. Eva Muraier): *Entwicklung einer Gentherapie für dystrophe EB*

Ziel

Ursache von dystropher EB (DEB) sind vererbte Veränderungen im Kollagen 7 Gen. Das von diesem Gen erzeugte Kollagen 7 Protein sorgt in gesunder Haut für den Zusammenhalt der einzelnen Schichten, welcher bei DEB-Betroffenen gestört ist und infolge zu Blasenbildung führt. Wir haben im EB-Haus in Salzburg die „SMaRT“ (Genschere) Gentherapie entwickelt, mit der gezielt der veränderte Gen-Abschnitt in der Hautzelle durch einen korrekten ausgetauscht werden kann. Ziel meines Projektes ist es die SMaRT-Methode für das Kollagen 7 Gen soweit zu etablieren, dass die für eine ex vivo-Gentherapie an DEB-Patienten angewandt werden kann. Dabei werden körpereigene Hautzellen im Labor vermehrt und mit einem Reparatur-Baustein behandelt. Anschließend lässt man die Zellen zu einer hauchdünnen Hautschicht wachsen, welche als Transplantat auf wunde Hautareale verpflanzt wird, um somit die Wunden zu schließen und eine erneute Blasen- und Wundbildung zu verhindern.

Aktueller Stand

Es ist uns bereits gelungen, das Kollagen 7 Gen und somit die Produktion des Kollagen 7 Proteins in Hautzellen von DEB-Betroffenen mithilfe eines speziell konstruierten Reparaturbausteines zu korrigieren. Darüber hinaus haben wir mit den reparierten Zellen eine künstliche Haut gezüchtet, und auf Mäusen transplantiert um zu überprüfen, ob die Kollagen 7 Reparatur ein Langzeiteffekt ist. Fünf Wochen nach der Transplantation war das Kollagen 7 Protein noch immer zwischen den Hautschichten vorhanden und es war auch keine Blasenbildung sichtbar. Dieser Versuch konnte mehrmals erfolgreich wiederholt werden. Wir konnten schon vor längerer Zeit zeigen, dass das Kollagen 7 Protein nach Behandlung der Zellen mit dem Reparaturmolekül wieder hergestellt wird, allerdings ist es uns erst kürzlich gelungen, die Reparatur auch direkt am Gen nachzuweisen. Durch eine spezielle Methode konnten wir erstmals zeigen, dass der defekte Genabschnitt in der Stelle punktgenau an der richtigen Stelle durch den gesunden Genabschnitt des Reparaturmoleküles ausgetauscht wird. Weiters haben wir mithilfe unserer etablierten Screening Methode ein neues Reparaturmolekül gefunden, das eine noch effizientere Reparatur des Kollagen 7 Genes zeigt. Diese haben wir in RDEB-Zellen ausgetestet und dabei Unterschiede in der Menge am reparierten Kollagen 7 festgestellt.

Ausblick

Als nächsten Schritt werden wir das neue Reparaturmolekül in einen Vektor (Transportmolekül) verpacken, der auch für eine spätere klinische Anwendung geeignet ist. (Bisher verwendete Vektoren tragen Antibiotikaresistenzgene die einen Nachweis der Vektoren in der Zelle erleichtern, allerdings nur für Zellkulturversuche und nicht für die Transplantation am Menschen verwendet werden dürfen.) Mit dem klinischen Vektor werden wir RDEB-Zellen behandeln und eine Reihe an Tests durchführen, um sowohl die Spezifität der Genschere, als auch die Effizienz des Transportes in die Zelle zu bestimmen. Weiters werden wir mit den neu reparierten Zellen die Transplantation auf Mäuse wiederholen, und die humane Haut nach einem Zeitraum von mindestens 8 Wochen analysieren um einen Langzeiteffekt der Korrektur nachzuweisen.

Auszeichnungen

Unilever Österreichischer Dermatologenpreis 2010 für das Thema "Functional Correction of Type VII Collagen Expression in Dystrophic Epidermolysis Bullosa" von der Österreichischen Gesellschaft für Dermatologie und Venerologie (ÖGDV)

Projekt 5 (Mag. Birgit Tockner): *Entwicklung einer Gentherapie für dystrophe EB – Korrektur des vorderen Abschnittes des Kollagen 7 (COL7A1) Gens*

Ziel

Ausgehend vom Forschungsprojekt von Dr. Murauer soll im Zuge meines Projektes die Korrektur von Veränderungen im hinteren Abschnitt des Kollagen 7 Gens erzielt werden. Unter Verwendung der SMaRT-Technologie soll ein noch größerer Abschnitt des Kollagen 7 Gens, der genau die Hälfte des Gens darstellt, ausgetauscht werden. Somit können mit nur einem Reparaturmolekül alle Mutationen, die auf der zweiten Hälfte des Kollagen 7 Genes liegen, korrigiert werden. Die in den letzten Jahren gewonnenen Erkenntnisse über die Anwendung der SMaRT-Technologie sollen dabei in das Projekt aufgenommen und weiterentwickelt werden. Damit das Ziel, ein effizientes Reparatursystem zu etablieren, umgesetzt werden kann, liegt der Fokus meines Projektes in der Entwicklung von neuen und verbesserten Reparaturmolekülen (PTMs). Dies soll durch die Optimierung des bestehenden Screening Systems erreicht werden. Um die besten Reparaturmoleküle aus einem zufällig generierten Pool von unterschiedlichen PTMs zu identifizieren, werden Fluoreszenzmoleküle als Reporter für funktionelles trans-spleißen verwendet. Eine Neuerung dieses Screening Systems ist die Entwicklung einer stabilen Target-Zelllinie, die das Reporter-Targetmolekül stabil ins Zellgenom integriert hat, und somit eine EB-Zelle „nachahmt“. Dadurch

kann die Reparatureffizienz der PTMs noch genauer gemessen werden. Ziel ist es, mithilfe eines FACS-Sorters die effizientesten PTMs zu isolieren und diese sodann für die Behandlung von Patientenzellen zu adaptieren. Die behandelten Zellen werden anschließend mittels verschiedener Verfahren charakterisiert, um das Verschwinden bzw. die Reduktion der Krankheitsmerkmale zu beweisen.

Aktueller Stand

Die Reparaturmoleküle wurden bereits konstruiert und durch den Einsatz einer speziellen Screening-Technologie konnten effiziente Reparaturmoleküle identifiziert werden. Die Funktionalität dieser Moleküle wird in Zellkulturexperimenten überprüft. Versuche in einem Testsystem zeigten, dass diese Konstrukte funktionell sind.

Ausblick

In den folgenden Experimenten soll analysiert werden, ob die konstruierten Reparaturmoleküle in Kollagen 7 defizienten Patientenzellen über die Methode der Genschere eine Korrektur des Gens bewirken und dadurch wieder die Produktion eines funktionellen Kollagen VII Proteins ermöglichen. Weiters soll die Entwicklung eines stabilen Systems zur permanenten Integration korrigierter Moleküle abgeschlossen werden. Ein weiterer Schwerpunkt bezieht sich auf die Etablierung einer neuen Methode zur Herstellung von Hautäquivalenten unter der Verwendung von humanen Amnionmembranen.

Projekt 6 (Mag. Elisabeth Mayr): *Entwicklung einer Gentherapie für dystrophe EB – Korrektur des vorderen Abschnittes des Kollagen 7 (COL7A1) Gens*

Ziel

Mein Projekt umfasst die Korrektur von Mutationen im vorderen Bereich des Kollagen 7 Genes. Somit wollen wir die Korrektur von sämtlichen Mutationen, die zu dystropher EB führen, ermöglichen. Auch hier soll mithilfe der SMaRT-Technologie das Kollagen 7 Gen repariert werden. Ziel ist die Wiederherstellung eines funktionellen Kollagen 7 Proteins wodurch der Zusammenhalt der Hautschichten wieder hergestellt wird. Parallel zur Korrektur von humanem Kollagen 7 arbeite ich in Hautzellen von Mäusen an der Korrektur von murinem Kollagen 7 um Experimente in der Maus vorzubereiten.

Aktueller Stand

Reparaturmoleküle mit einer Korrektoreffizienz von bis zu 95% wurden sowohl für humanes als auch für murines Kollagen 7 mithilfe eines Reportersystems identifiziert. In Zellkultur konnte bereits gezeigt werden, dass diese Moleküle auch in Hautzellen funktionieren. In Patientenzellen, bzw. Zellen der Kollagen 7 hypomorphen Maus, wurde nach der Behandlung mit den Reparaturmolekülen wieder intaktes Kollagen 7 Protein hergestellt.

Ausblick

Aus den korrigierten Zellen werden demnächst in Zellkultur Hautäquivalente hergestellt, damit überprüft werden kann ob das Kollagen 7 Protein an der richtigen Stelle in die Haut eingelagert wird. Weiters wäre es interessant, im Mausmodell diverse Applikationsmöglichkeiten der Reparaturmoleküle zu evaluieren.

Projekt 7 (Mag. Alfred Klausegger): *Entwicklung einer Gentherapie für EB-Patienten im Col17A1 Gen mit der „Genschere“*

Ziel

Genetische Veränderungen (Mutationen) in den Genen der Haut führen zu den verschiedenen Erscheinungsformen der Epidermolysis bullosa. Diese Mutationen mit der SMaRT-Technik (Spli-

ceosome Mediated RNA Transsplicing, „Genschere“) langfristig zu korrigieren, ist das Ziel der Arbeitsgruppe. Dazu konzentrieren sich die Mitglieder der Arbeitsgruppe auf verschiedene Gene mit unterschiedlichen Mutationen (siehe Murauer, Koller, Klaussegger). Grundlage für meine Versuche ist eine Zelllinie mit der definierten Mutation 4003delTC im Col17A1 Gen. Bisher wurden auf der Basis der SMaRT-Technik verschiedene Moleküle synthetisiert und erfolgreich getestet.

Aktueller Stand

Das korrigierende Molekül konnte nun auch auf seine Effizienz in FACS-Analyser im Vergleich zu anderen Molekülen getestet werden. Dazu musste die entsprechende Sequenz in ein definiertes Trägermolekül kloniert werden. Über unser bereits etabliertes Screening System konnten 3 weitere spezifische Moleküle in das weitere Testprogramm aufgenommen werden. 1 Molekül wurde in einen retroviralen Vektor kloniert und damit eine Zelllinie stabil transfiziert.

Ausblick

Die Moleküle müssen noch auf ihre Funktionalität getestet werden. Die unspezifische Integration des Reparaturbausteins konnte bisher mit einem speziellen Testverfahren (LAM-PCR, RACE) noch nicht ausgeschlossen werden und ist weiterhin Ziel fortführender Arbeiten.

5.3.2 Immunologische Toleranz

Projekt 1 (Dr. Doris Peckl-Schmid / Monika Ettinger, MA): *Induktion von immunologischer Toleranz*

Ziel

Dieses Projekt befasst sich mit dem Thema Toleranzinduktion in der Haut. Dr. Iris Gratz hat dieses Arbeitsgebiet etabliert und die Konstrukte sowie Methoden für das DEC-205-Targeting-Projekt von ihrem Auslandsaufenthalt in Heidelberg 2008 hierher mitgenommen. Seit Juli 2009 arbeitet Dr. Gratz in San Francisco (USA). Frau Dr. Doris Peckl-Schmid hat die Vertretung von Frau Dr. Iris Gratz während ihres Forschungsaufenthaltes übernommen.

Durch Veränderung eines Gens kann bei manchen EB-Betroffenen ein bestimmtes Protein (Eiweiß) der Haut nicht - auch nicht in kleinen Restmengen - hergestellt werden (z.B. fehlendes Typ 17 Kollagen bei junktionaler Epidermolysis bullosa). In diesen Fällen hatte das Immunsystem noch nie Kontakt mit dem betreffenden Protein. Bevor mit einer Gentherapie begonnen werden kann, muss das Immunsystem vorbereitet werden, um eine Abstoßung des neu eingeschleusten Proteins zu verhindern. Wir suchen daher nach Möglichkeiten, das Immunsystem des EB-Betroffenen so zu beeinflussen, dass es nicht mehr auf das neue, für ihn fremde Protein reagiert. Diesen Zustand nennt man immunologische Toleranz und dieser muss schon im Vorfeld einer geplanten Gentherapie induziert werden. Aus der wissenschaftlichen Literatur sind verschiedene Ansätze zur Induktion von immunologischer Toleranz bekannt. Wir arbeiten an der Optimierung verschiedener Ansätze, um sie für EB-Proteine anwenden zu können.

1. „DEC-205-targeting“ von EB-Proteinen zu unreifen Antigen-präsentierenden Zellen (Dendritische Zellen): In diesem Ansatz wird ein spezielles Molekül verwendet, das selektiv an unreife dendritische Zellen (=Antigen-präsentierende Zellen des Immunsystems) bindet. Dieses wird mit dem Antigen gekoppelt wodurch, dieses gezielt in dendritische Zellen eingeschleust werden kann. Das Antigen ist in unserem Fall jener Teil des Proteins Kollagen Typ 17, auf dem die Haupterkennungssequenzen der Immunzellen liegen. Antigen-Präsentation der unreifen dendritischen Zelle führt zur Induktion spezifischer regulatorischer T-Zellen, welche die zentralen Zellen der Toleranz darstellen. Der Aufbau von Immun-Toleranz wird anhand des Mausmodells für Hauttransplantationen getestet.

2. „Impfung“ mit einem Fragment von Kollagen 17: Bei diesem Ansatz wird das Antigen allein verabreicht. Mit zwei verschiedenen Immunisierungsmethoden (einerseits über die Haut, ande-

rerseits über die Leber) untersuchen wir die Wirkung auf das Immunsystem im Hinblick auf die Vermeidung von Abstoßungsreaktionen bei Hauttransplantationen am Mausmodell.

Details zum Mausmodell für Hauttransplantationen: Als Spendertiere verwenden wir genetisch veränderte Mäuse, die das menschliche Protein Typ 17 Kollagen in ihrer Haut produzieren. Empfänger-Mäuse werden vor der Transplantation behandelt (siehe Punkte 1. und 2.), um Abstoßungsreaktionen gegenüber Typ 17 Kollagen zu verhindern.

Aktueller Stand

„DEC-205-targeting“ von EB-Proteinen zu unreifen Antigen-präsentierenden Zellen (Dendritische Zellen) und „Impfung“ mit einem Fragment von Kollagen 17: In unserem Mausmodell, in dem die einzelnen Ansätze der Immun-Toleranz gegenüber dem menschlichen Eiweiß (Typ 17 Kollagen) getestet werden sind vor allem bei der „Impfung“ mit einem Kollagen 17 Fragment Erfolge zu verzeichnen. Die Rate der akzeptierten Transplantate konnte erheblich gesteigert werden.

Ausblick

„DEC-205-targeting“ von EB-Proteinen zu unreifen Antigen-präsentierenden Zellen (Dendritische Zellen) und „Impfung“ mit einem Fragment von Kollagen 17: Frau Mag. Ettinger wird nach Abschluss ihrer Dissertation eine medizinische Karriere einschlagen. Frau Dr. Peckl-Schmid und die Nachfolgerin von Frau Mag. Ettinger werden die Effekte des DEC-205-targeting und der „Impfung“ mit Kollagen 17 Fragmenten weiter untersuchen. Das Ziel ist, den Mechanismus, der zur Akzeptanz der Hauttransplantate führt, aufzudecken und auch die Rate der akzeptierten Transplantate weiter zu steigern.

Kooperationen

- Immunologische Arbeitsgruppe von Univ.-Prof. Dr. Josef Thalhamer und Dr. Peter Hammerl, Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität Salzburg.
- Prof. Dr. Karsten Mahnke, Universitätsklinikum Heidelberg

Projekt 2 (Dr. Martina Haim): *Etablierung eines Mausmodells für EB acquisita*

Ziel

Das Ziel dieses Projektes ist die Schaffung eines Mausmodells, das die Situation von EBA Patienten widerspiegelt. Mit diesem Mausmodell wäre es ebenso möglich, die Immunantwort einer funktionierenden Kollagen VII Gentherapie in RDEB-Patienten zu reproduzieren und zu untersuchen. Hierfür werden Teile des humanen Eiweiß Typ VII Kollagen in die Haut von Mäusen eingebracht und die Immunantwort (Antikörperproduktion) der Mäuse analysiert.

Aktueller Stand

Da das humane Kollagen VII Eiweiß dem Maus Kollagen VII sehr ähnlich ist, war es fraglich, ob humanes Kollagen VII in der Maus eine Immunantwort auslöst. Es konnte erfolgreich gezeigt werden, dass das Verabreichen von Teilen des humanen Eiweiß Kollagen VII zu einer hohen Antikörperproduktion und somit zu einer Immunantwort in der Maus führt. Die Spezifität der so produzierten Antikörper wurde auf humanen Hautschnitten getestet. Die Antikörper erkannten dabei Strukturen des humanen Kollagen VII in der Haut. Weiters wurden Teile des Kollagen VII Eiweiß in bakteriellen Zellen produziert. Das dabei hergestellte Eiweiß war eine Voraussetzung für weitere Experimente zur Untersuchung der Immunantwort.

Ausblick

Abschließende Experimente sollen nun erste Aufschlüsse über die Immunantwort auf humanes Kollagen VII in der Maus geben. Die behandelten Mäuse werden hierfür mittels serologischer und zellulärer Studien untersucht. Die Kenntnisse dieser Arbeit liefern einen wichtigen Grundstock für Folgestudien hinsichtlich Toleranz nach erfolgreicher Kollagen VII Therapie in RDEB-Patienten.

5.3.3 Krebstherapie für Patienten mit dystropher EB (Dr. Christina Gruber)

Ziel

RDEB-Patienten weisen neben der massiven Blasenbildung der Haut ein erhöhtes Krebs-Risiko auf und können ein aggressives Plattenepithelkarzinom (PLECA) entwickeln. Dies zeichnet sich durch ein erhöhtes Maß an Invasivität aus, welche für den Patienten eine lebensbedrohliche Komplikation darstellt. Bis dato gibt es keine erfolgreichen medikamentöse oder Strahlen-Therapien und aufgrund des erhöhten Potentials zur Metastasenbildung müssen die Tumore in chirurgischen Eingriffen großflächig entfernt werden. Diese Intervention bringt jedoch oft nur einen vorübergehenden Effekt. Wir etablieren ein neues molekularbiologisches Verfahren, das den gezielten Tod der Tumorzellen herbeiführen soll. Diese Technik basiert auf der bereits beschriebenen Genschere-Technologie, die auf der einen Seite einen fehlerhaften Genabschnitt durch die korrekte Version ersetzen (bei EB-Gentherapie) oder, im Falle der Tumorthherapie ein komplett anderes Gen in die Zelle einbringen kann. Unser Ziel ist es, auf diesem Weg ein Gen, das nur in Tumorzellen vorkommt durch ein Zellgift zu ersetzen, das in weiterer Folge die Zerstörung der Tumorzelle auslöst. Deshalb wird dieser Ansatz auch als „Selbstmord“-Gentherapie bezeichnet.

Aktueller Stand

Wir konstruierten verschiedene „Selbstmord“-Moleküle, die in der Zellkultur bereits erfolgreich getestet wurden. Die Technik bietet auch eine hohe Zellspezifität, was bedeutet, dass das Molekül nur in Tumorzellen wirken kann und „gesunde“ Zellen verschont. Diese Arbeit wurde im Journal of Molecular Therapeutics eingereicht und zur Publikation angenommen. (Erscheinungstermin Februar 2011). Um den Therapieansatz noch zu verbessern wurde nach einem weiteren Gen gesucht, das nur in EB-Tumorzellen vorkommt. Dieses Gen wurde wieder für den Bau von neuen „Selbstmord“-Molekülen verwendet und durch unsere Screening Methode wurden die effektivsten Moleküle identifiziert. Darüber hinaus habe ich mich mit der Etablierung verschiedener Mausmodelle für das Plattenepithelkarzinom beschäftigt. Um das EB-Karzinom auch im Tiermodell erforschen zu können verwenden wir Mäuse, die kein Immunsystem besitzen. Dadurch kommt es bei Verabreichung von menschlichen EB-Tumorzellen zu keiner Abstoßungsreaktion.

Ausblick

Als nächsten Schritt werden die „Selbstmord“-Moleküle im Tiermodell getestet und deren Effizienz bestimmt. Verschiedene Verabreichungsmethoden sollen erprobt werden um das schonendste und effektivste Verfahren zu bestimmen.

5.3.4 Wundheilung und Narbenbildung (Mag. Jenny Breitenbach)

Ziel

Bei vielen Formen von EB ist die Wundheilung stark beeinträchtigt, wobei es oft zur Ausbildung von chronischen Wunden und Narben mit Geweberückbildung kommt. Zusätzlich kann es bei rezessiv dystropher EB vom Typ Hallopeau-Siemens zu Kontrakturen kommen, die zum Verlust der Greiffähigkeit von Fingern führen. Durch genomweite Untersuchung der Genaktivität in vernarbter und nicht vernarbter Haut von EB-Patienten und gesunden Personen durch Microarrays sollen Gene gefunden werden, deren Aktivität sich zwischen den untersuchten Gruppen deutlich unterscheidet. Diese Gene spielen höchstwahrscheinlich bei der Narbenbildung im Allgemeinen sowie bei EB-Narben im Besonderen eine wichtige Rolle. Die Ergebnisse aus den Microarrays sollen weiters durch andere Methoden überprüft werden – sowohl auf Gen-Ebene als auch auf Ebene der entsprechenden Eiweißstoffe. Die Mikroskopie von vernarbter und nicht vernarbter Haut von EB-Patienten und gesunden Personen soll Aufschlüsse über die Lokalisation und Funktion der entsprechenden Eiweißstoffe sowie deren Rolle in Narbenbildung und Wundheilung bei EB-Patienten geben.

Aktueller Stand

Die Genaktivität in vernarbter und nicht vernarbter Haut von RDEB-Patienten und gesunden Personen wurde durch Microarrays verglichen. Einige jener Gene, deren Aktivität sich zwischen RDEB-Patienten und gesunden Personen unterscheidet, wurden mit anderen Methoden sowohl auf Genebene als auch auf Ebene der entsprechenden Eiweißstoffe untersucht. Dabei war bei RDEB-Patienten vor allem die Aktivität solcher Gene erhöht, die bei Entzündungsvorgängen eine Rolle spielen. Derzeit wird an der weiteren Überprüfung der Daten aus den Microarrays gearbeitet. Außerdem wurden in vitro-Wundheilungsassays (sogenannte „scratch assays“) durchgeführt. Dabei wird einer Zellschicht in der Zellkultur ein Kratzer zugefügt und die Zeit gemessen, bis dieser vollständig zugewachsen ist. Bei Versuchen mit Haut-Bindegewebszellen aus vernarbtem und nicht vernarbtem Gewebe von gesunden Personen und RDEB-Patienten wuchsen die Kratzer in Schichten von Zellen gesunder Personen schneller zu als in Zellschichten von EB-Patienten.

Ausblick

Weiters ist die Entwicklung eines 3D-Narbenbildungsmodells in Zellkultur geplant. In diesem soll die Aktivität der in den Mikroarrays gefundenen Gene hinauf- oder hinunter reguliert werden, um deren Einfluss auf Narbenbildung und Wundheilung zu untersuchen. Außerdem soll damit untersucht werden, ob Substanzen, die laut Literatur die Wundheilung begünstigen und/oder Narbenbildung verringern, in EB-Wunden die gleiche Wirkung zeigen. In weiterer Folge sollen diese Substanzen (körpereigene Botenstoffe und/oder Pharmazeutika) zur Behandlung von EB-Patienten eingesetzt werden.

5.3.5 Entschlüsselung molekularer Mechanismen von EB simplex (Mag. Martin Wagner)

Ziel

In diesem Projekt werden Epidermolysis bullosa simplex (EBS) Keratinozyten (KEB7) untersucht, die eine Mutation im Keratin 14 tragen. Diese Mutation führt zu einer Instabilität des Zellskeletts und bewirkt, dass andere Gene an- und abgeschaltet werden als in gesunden Zellen (NEB1). Diese Gene sind bzw. könnten zum Teil für das Erscheinungsbild von EBS verantwortlich sein. Genomweite Genexpressionsstudien in humaner Zellkultur sollen die Reaktionen von Genen auf die Mutation charakterisieren. Dadurch kann man die Signalwege, welche die Erkrankung beeinflussen, in der Zelle charakterisieren. Ein zweiter großer Block beschäftigt sich mit der Charakterisierung zellbiologischer Vorgänge in der EBS-Zelllinie. Im Konkreten werden Wachstum der Zellen sowie das Stressverhalten und die Reaktionen von Genen auf verschiedene Substanzen, die sich positiv auf die Erkrankung auswirken könnten, untersucht. Um dies schnell und effizient bewerkstelligen zu können befasst sich der dritte große Teil des Projekts mit der Optimierung von molekularen und zellbiologischen Analysesystemen.

Aktueller Stand

Über Microarray Analysen, mit deren Hilfe die Regulation von ~29000 Genen untersucht wurde, konnten 276 Gene mit reduzierter und 282 Gene mit gesteigerter Aktivität in KEB7-Zellen identifiziert werden. Mit einer anderen Methode zur Darstellung dieses Genaktivitätsmusters, der subtraktiven Hybridisierung, wurden 55 Gene mit erhöhter Aktivität gefunden. Dieses Verhalten konnte in 17 dieser Gene über weitere Versuche bestätigt werden. Interessanterweise beeinflussen alle 17 Kandidaten die Wundheilung und das Wachstum von Keratinozyten und dienen somit als Ziele für weitere Studien in Richtung Therapie von EBS. Zu diesem Thema wurde auch soeben ein Manuskript für eine Publikation fertig gestellt, welches in Kürze an ein Fachjournal zur Begutachtung versendet wird. Weiters wurde das Stressverhalten von EB-Zellen durch Zugabe von Stress auslösenden Substanzen untersucht. Im Gegensatz zu gesunden Zellen zeigten sich die KEB7 Zellen dabei nicht mehr oder weniger stressanfällig, jedoch konnte eine veränderte Reaktion auf den Stress festgestellt werden. Erste Tests, das Verhalten von EB-Zellen in Gegenwart

6 Akademiebericht

6.1 Übersicht

Die Aufgaben und Tätigkeiten in der Akademie konzentrieren sich auf die zukunftsorientierte Aus- und Weiterbildung all jener Personen, die sich mit der Problematik der EB beschäftigen. In diesem Sinne wurden Betroffene und Angehörige, ärztliches und wissenschaftliches Personal, aber auch Laien, Interessierte und Spender kompetent mit neuesten Informationen versorgt. Weitere Aktivitäten sind Fachvorträge im In- und Ausland, die Publikationstätigkeit und die Bereitstellung von einschlägigem Informationsmaterial. Die Erfassung relevanter Daten im EB-Register ermöglicht Aussagen über die Häufigkeit der Erkrankung insbesondere in Österreich. Das Register ist aber auch ein wichtiges Schlüsselinstrument, um Wissen über verschiedene Formen der EB zu erweitern und Informationen für die klinische Forschung bereit zu stellen. Als Drehscheibe der Kommunikation wurden und werden bestehende Netzwerke gepflegt und neue Kooperationen aufgebaut.

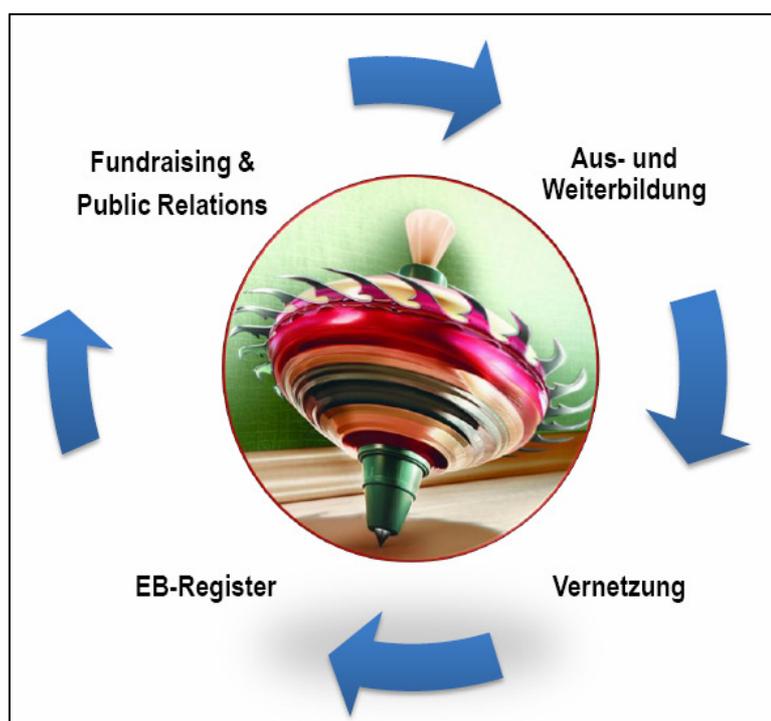


Abb.8: Die Akademie im EB-Haus als Drehscheibe der Kommunikation

Für Anfragen (Telefonate oder E-Mail) aus dem In- und Ausland steht die Akademie als kompetenter Ansprechpartner zur Verfügung. Informationen erhalten Interessierte über die Website; über das Notfall-Telefon (+43 676 84 37 37 220) ist jederzeit Hilfe aus dem EB-Haus zu verfügbar.



Abb. 9: EB-Haus Website, E-Mail, Notfall-Telefon

6.2 Aus- und Weiterbildung

Für Tätigkeiten im Sinne der Aus- und Weiterbildung seitens der Akademie lautet die Kurzformel im Jahr 2010: „EB-Haus International“.

Workshops, Seminare und Konferenzen

Im Berichtszeitraum wurden folgende Termine von Mitarbeitern des EB-Haus Austria und/oder von Mitgliedern der DEBRA Austria wahrgenommen:

DATUM	VERANSTALTUNG	ORT
22.-25.2.10	International Congress: Rare Diseases and Orphan Drugs	Rom (IT)
3.3.10	Multi-disciplinary Study Day	London (UK)
8.-9.3.10	Practical Paediatric EB for Professionals	Birmingham (UK)
19.3.10	Vorstandsworkshop Dr. Clare Robinson: DEBRA Austria funding for MSAP projects	EB-Haus Austria
24.-26.3.10	Wundakademie	Bad Erlach (AT)
5.-8.5.10	SID (Society for Investigative Dermatology)	Atlanta (US)
6.-7.5.10	Seminar Systagenix Wound Management	Leogang (AT)
13.-15.5.10	5th European Conference on Rare Diseases	Krakow (PL)
19.-22.5.10	ASGCT (American Gene and Cell Therapy Meeting)	Washington (US)
11.6.10	1. Regionales Forum für Seltene Krankheiten (Orphan Diseases)	Salzburg (AT)
18.-20.6.10	Wochenende für EB-Mütter	Salzburg (AT)
25.6.10	Vorstandsworkshop Dr. Clare Robinson: Research Strategies DEBRA UK/International	EB-Haus Austria
25.-27.6.10	Wochenende für EB-Männer	Salzburg (AT)
29.6.10	Seminar Dr. Mellerio: "Extra-cutaneous problems in EB"	EB-Haus Austria
26.-29.8.10	Advanced Symposium Viral Vectors in Gene Therapy	Kuopio (FI)
5.-7.9.10	International Clinically Orientated Symposium "EB"	Freiburg (DE)
8.-11.9.10	European Society for Dermatological Research (ESDR)	Helsinki (FI)

13.9.2010	Dr. Meixner "Induzierte pluripotente Stammzellen" IMBA	EB-Haus Austria
29.9.10	1. Südtiroler Symposium, Interreg IV-Projekt „Therapie für Schmetterlingskinder“	Bozen (IT)
6.-9.10.10	13th European Health Forum Gastein (EHFG)	Bad Hofgastein (AT)
15.10.10	Vorstandssitzung DEBRA Austria	EB-Haus Austria
15.-16.10.10	1. Mariazeller Gesundheitsdialog: Rare Diseases	Mariazell (AT)
16.- 17.10.10	Jahrestreffen DEBRA Austria	St. Virgil (AT)
10.-14.11.10	XVIII Congreso Iberoamericano de Dermatología	Cancun (MX)
16.-18.11.10	DEBRA International Meeting	Santiago (CL)
19.-21.11.10	Jahrestagung: Österreichische Gesellschaft für Dermatologie und Venerologie	Wien (AT)

Wissenschaftliche Vorträge

Die internationale Vortragstätigkeit umfasste verschiedene Themenbereiche wie „Grenzüberschreitende Patientenversorgung“ (Polen), „Nationale Aktionspläne für Seltene Erkrankungen“ (Kroatien), „Internationale Programme zur Behandlung von EB“ (Südtirol), aber auch klinisch-diagnostische Fragestellungen (Mexico und Chile).

- Pohla-Gubo G: The Epidermolysis Bullosa House in Salzburg. Cross border activities of Centres of Expertise. 5th European Conference on Rare Diseases, Krakau, Polen. 13.-15. Mai 2010
- Pohla-Gubo G: National Plan for Rare Diseases in Austria and the EB House Austria as a Centre of Expertise. 1st Croatian National Conference for Rare Diseases, Dubrovnik; 17.-19. September 2010
- Pohla-Gubo G: Internationale Programme zur Behandlung der Epidermolysis bullosa. Interreg IV-Projekt „Therapie für Schmetterlingskinder“, 1. Südtiroler Symposium, Bozen, Südtirol. 29. September 2010
- Pohla-Gubo G, Nischler E, Hintner H: Diagnostics in EB: Pitfalls with newborns and babies with blisters and erosions. XVIII Congreso Iberoamericano de Dermatología. Taller de Epidermolisis Bulosa, Cancun, México. 10. November 2010
- Pohla-Gubo G, Nischler E, Hintner H: Diagnostics in EB: Pitfalls with newborns and babies with blisters and erosions. DEBRA International Congress, Santiago, Chile. 17. November, 2010



Abb. 10: Links – die Vortragenden beim XVIII Congreso Iberoamericano de Dermatología in Cancun, Mexico; Rechts – Dr. Francis Palisson, Präsident von DEBRA Chile, mit Dr. Gabriela Pohla-Gubo und Dr. Rainer Riedl beim DEBRA International Congress, Santiago, Chile.

Publikationen

Unter Federführung der Akademie wurden folgende Schriften von Mitarbeitern der Universitätsklinik für Dermatologie, des EB-Hauses und internationalen EB-Partnern erstellt und in namhaften Journalen publiziert:

- Pohla-Gubo G, Cepeda-Valdes R, Hintner H: Immunofluorescence Mapping for the Diagnosis of Epidermolysis Bullosa. *Dermatol Clin* 28: 201-210, 2010
- Pohla-Gubo G, Hintner H: Epidermolysis Bullosa Care in Austria and the Epidermolysis Bullosa House Austria. *Dermatol Clin* 28: 415-420, 2010
- Pohla-Gubo G, Riedl R, Nuess D, Bauer JW, Hintner H: EB 2009 The DEBRA International Epidermolysis Bullosa Research Conference, Vienna, 6-8 September 2009, OrphanNews Europe, 20 October 2010
- Cepeda-Valdés R, Pohla-Gubo G, Borbolla-Escoboza JR, Barboza-Quintana O, Ancer-Rodríguez J, Hintner H, Salas-Alanis JC: Mapeo por inmunofluorescencia para el diagnóstico de epidermólisis ampollosa congenital. *Actas Dermo-Sifiliogr.* 101(8):673-82, 2010
- Pohla-Gubo G: EB-Haus Austria: Ein Kompetenzzentrum für Epidermolysis bullosa *The Pel Times*, Nr. 3, Mai 2010
- Pohla-Gubo G: The Epidermolysis bullosa House in Salzburg. *OJRD* 5(Suppl 1):O12, 2010
- Laimer et al (Pohla-Gubo G): "Diffuse cutaneous mastocytosis masquerading as epidermolysis bullosa". *Pediatr Dermatol.* (accepted)

6.3 Fundraising und Public Relations

Conrad N. Hilton Humanitarian Prize

Im April 2010 wurde von Dr. Gabriela Pohla-Gubo in Zusammenarbeit mit Dr. Dorota Nüß für die Organisation DEBRA Austria ein Antrag auf den Conrad N. Hilton Humanitarian Preis gestellt und bei der Hilton Foundation eingereicht.

Der Conrad N. Hilton Humanitarian Prize ist die weltweit höchst dotierte Auszeichnung für besondere humanitäre Verdienste. Er wird von der Conrad N. Hilton Foundation, einer amerikanischen Stiftung aus dem Nachlass des Hoteliers Conrad Nicholson Hilton verliehen. Gemäß dem letzten Willen des Stifters unterstützt diese Stiftung humanitäre Projekte, die das Leiden von Menschen lindern. Die Verleihung des Preises beruht auf die Philosophie des Hoteliers, Hilfe anzubieten für die am meisten Not Leidenden und am stärksten Benachteiligten. So werden seit 1996 Preise an nichtstaatliche Organisationen für außergewöhnliche Beiträge zur Behebung und Linderung menschlichen Leidens vergeben.

Das Preisgeld beträgt 1,5 Millionen US-Dollar und wird das nächste Mal im April 2011 vergeben. Naturgemäß bemühen sich viele Antragsteller um Zuerkennung dieser ansehnlichen Summe, dennoch hoffen wir auf einen Erfolg unserer Einreichung.

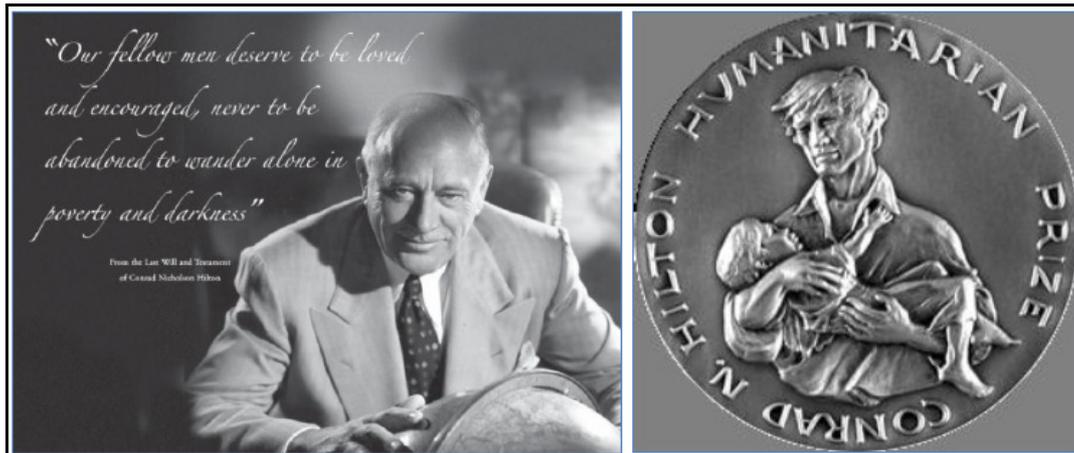


Abb. 11: Links: Conrad N. Hilton vor einem Fragment seines letzten Willens aus dem Testament
Rechts: Conrad Hilton Prize Award.

Website (www.eb-haus.eu), Zeitung (EB-Haus Aktuell), Broschüren und Flyer

Als Medien zur Information für Betroffene, DEBRA-Mitglieder und Spender dienen die Website des EB-Hauses, die zweimal jährlich erscheinende Zeitung EB-Haus Aktuell sowie verschiedenste Broschüren und Flyer. Zu den Tätigkeiten seitens der Akademie in Zusammenarbeit mit Kollegen der anderen Einheiten im EB-Haus zählten im abgelaufenen Jahr:

- Die Bereitstellung neuer und Überarbeitung bestehender Informationsdokumente zur Veröffentlichung auf der EB-Haus Website in deutscher und englischer Sprache. Neu hinzugekommen sind:
 - Pflege von Kindern mit EB / How to care for children with EB
 - Pflege von Babys mit EB / How to care for babies with EB
 - Juckreiz bei EB / Itching in the case of EB
- Fachliche Korrekturen von Übersetzungen englischer Wissenschaftsdokumente ins Deutsche:
 - Minnesota – Knochenmarkstransplantation / Minnesota – Bone marrow transplantation
 - Fibroblasten Therapie (März 2010) / Fibroblast Therapy (March 2010)
 - Chefredaktion und eigene Berichte für zwei Ausgaben der Zeitung EB-Haus Aktuell



Abb. 12: Die beiden Ausgaben der Zeitung EB-Haus Aktuell aus dem Jahr 2010

Pressekonferenzen

Ein wichtiges Instrument zur Bekanntmachung der Tätigkeiten und hier insbesondere der Forschungsergebnisse aus dem Labor des EB-Hauses sind Pressekonferenzen. Diese werden einberufen, wenn berichtenswerte Ergebnisse erzielt wurden. Seitens der Akademie wurden entsprechende Presstexte in sachlicher, aber auch für Laien verständlicher Form aufbereitet. Im Jahr 2010 fand eine wichtige Pressekonferenz anlässlich der Publikation aus dem EB-Forschungslabor statt. Die Arbeit von Dr. Eva Muraier und Kollegen mit dem Titel „Functional correction of type VII collagen expression in dystrophic epidermolysis bullosa“, veröffentlicht im Journal of Investigative Dermatology, wurde einem breiten Publikum vorgestellt.

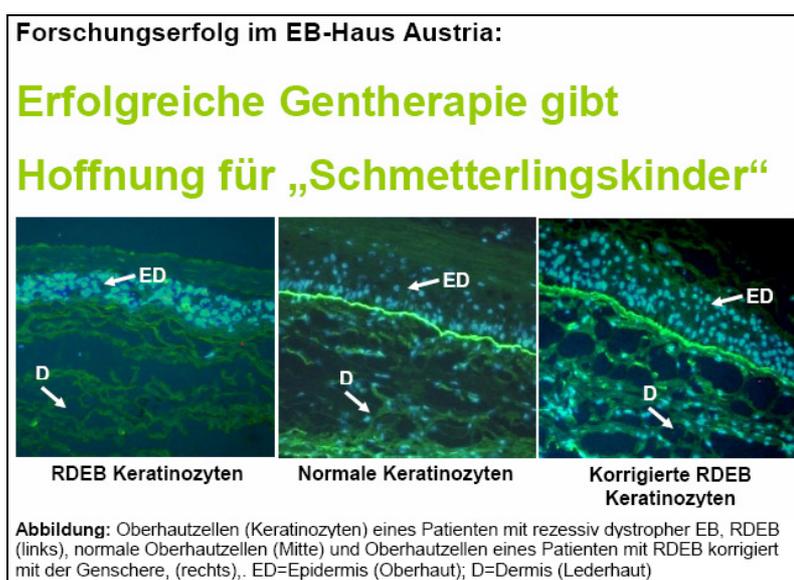


Abb. 13: Pressekonferenz zum Thema Genthherapie für „Schmetterlingskinder“ am 21.09.2010

6.5 EB-Register Austria

Mit Ende 2010 waren 281 PatientInnen aus insgesamt 18 Ländern im EB-Register Austria vermerkt. 169 stammen aus Österreich, 58 aus Deutschland, 13 aus Italien, der Rest sind Einzelfälle aus weiteren 15 Ländern (Abb. 13). Fälle von EB simplex (EBS) und EB dystrophicans (EBD) sind zahlenmäßig ähnlich verteilt, deutlich seltener sind Fälle von EB junctionalis (EBJ), (Abb. 14).

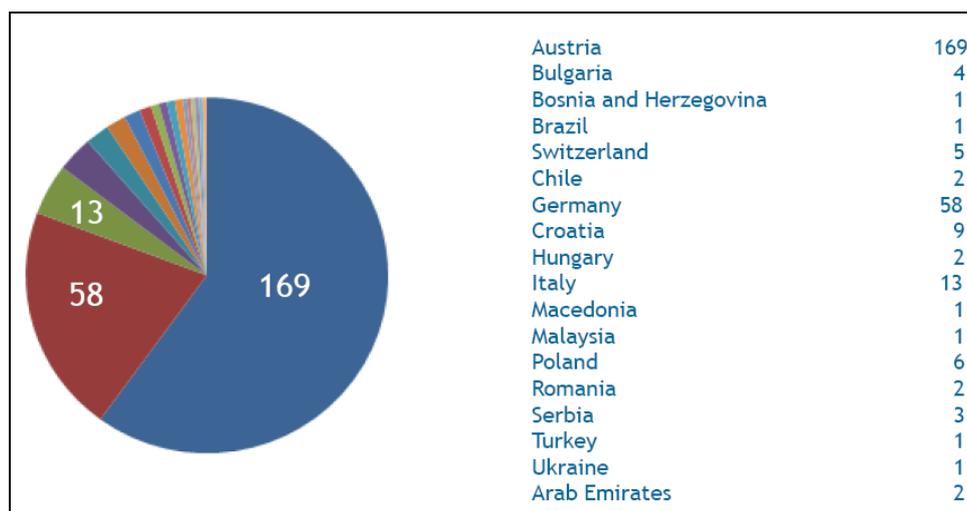


Abb. 14: 281 EB-Betroffene aus 18 Ländern wurden bisher im EB-Haus medizinisch versorgt

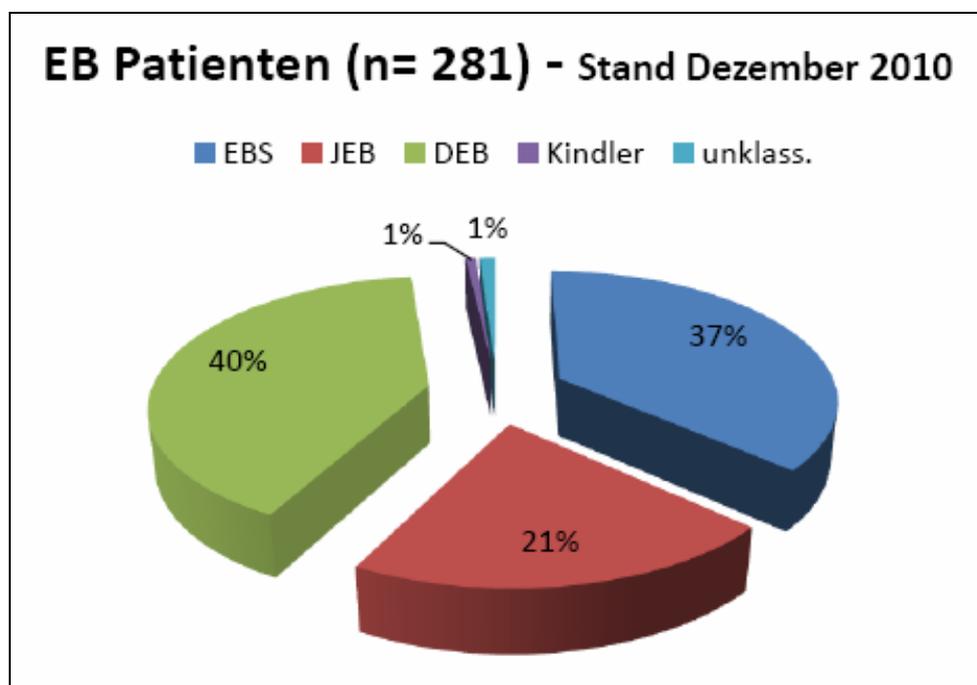


Abb. 15: Verteilung der Haupttypen von EB (simplex, junctionalis, dystrophicans) bei 281 Betroffenen

6.6 Interessenten- und Spenderbetreuung

Vorträge, Kooperationen, Führungen und Spendenübernahmen im EB-Haus Austria:

1. Hr. M. Lechner, Obmann SHG Ichthyose; 27.01.2010
2. Fam. Mitgutsch, Motocross-Veranstaltung; 28.05.2010
3. Kooperationsvereinbarung DermaKIDS e.V. Berlin; 06. - 08.07.2010
4. Hr. M. Klementsitsch, Schülerunion Salzburg; 07.07.2010
5. Hr. Brandner, Siedlerverein Seewalchen; 08.07.2010
6. Mag. V. Stangl, Direct Mind-Kundenbetreuerin; 23.07.2010
7. Mag. H. Siegler, Lions Golfturnier Radstadt, 29.07.2010
8. Mag. Christine Pözl und Kollegen Direktanlage; 15.09.2010
9. Workshop DermaKIDS e.V. Berlin; 21.-22.09.2010
10. Hr. T. Raymond, Schmetterlingsbilderaktion; 23.09.2010
11. Fr. A. Eder Landesregierung Salzburg, Sommerfest Berufsschullehrer; 05.10.2010
12. Fr. S. Klima und Mag. B. Engländer RMCC; 07.10.2010
13. Dr. T. Checherska und Dr. P. Chernyshov Ukraine; 20.10.2010
14. Hr. H. Bigenzahn VS Ebenau; 22.11.2010
15. Hr. L. Osterberger, Bildspende; 24.11.2010
16. Goldhauben Trachtenverein OÖ; 26.11.2010
17. Schüler der BHAK und BHAS Hall, Matura Projekt; 30.11.2010
18. M. Leithinger, G. Wiplinger, C. Grobbauer und J. Pamminger, Rad und Sportverein „Botschnpicka“; 17.12.2010
19. Landeshauptfrau Mag. G. Burgstaller; 21.12.2010

Vorträge, Informationen und Spendenübernahmen außerhalb des EB-Hauses:

1. Fam. Dallinger, Attnang; 15.02.2010
2. Mag. F. Seher und Mag. M. Kaser, Geschäftsführer Interspar; 03.03.2010
3. Hauptschule Grödig; 08.04.2010
4. Hauptschule Grödig; 14.06.2010
5. Fr. K. Moser und Kolleginnen, Matura Projekt HAK 2; 02.07.2010
6. Behindertenwoche Scheffau am Wilden Kaiser; 21.03.2010
7. Sommerkonzert Hauptschule Grödig; 30.06.2010
8. Volksschule Scheffau am Wilden Kaiser; 07.07.2010
9. Premiere des „Jedermann“, Seebühne Seeham; 09.07.2010
10. Golfanlage Radstadt, Wohltätigkeitsturnier Lions Club Pongau Höch; 31.07.2010
11. Ing. A. Engelhardt, Worldgames Mountainbiking; 11.09.2010
12. Sommerfest conova communication; 23.09.2010
13. Autohaus Reidl Bürmoos; gemeinsam mit LHF Mag. G. Burgstaller und BM P. Eder, 02.11.2010
14. Bildungshaus St.Virgil Salzburg; 03.11.2010
15. Vernissage Mariposa, Artforum Salzburg; 11.11.2010
16. Musikantenweihnacht, Lichtblicke Kitzbühel ; 28.11.2010
17. Eröffnung Spar Supermarkt Bürmoos, Fam. Ablinger; 01.12.2010
18. Seniorenheim Taxham „Alt hilft Jung“; 14.12.2010
19. Burger King / Round Table; 15.12.2010

6.7 Mütter-, Väter-/Männer- und Familienwochenenden

Gemeinsam mit DEBRA Austria wurde ein Programm für speziell auf die Bedürfnisse erschöpfter Eltern ausgerichtete Entspannungswochenenden erarbeitet. Auch hier wurden Mag. Eva-Maria Roth und Mag. Ingo Vogl eingebunden.

Bereits zum vierten Mal fand das Entspannungswochenende für Mütter von „Schmetterlingskindern“ statt. An dieser Veranstaltung, die Raum zur Erholung der enorm belastenden Alltagssituation bietet, nahmen 13 Mütter aus Österreich und Deutschland teil. Die vielen positiven Rückmeldungen der Teilnehmerinnen bestärken, diese Veranstaltungsreihe auch im nächsten Jahr fortzuführen.



Abb. 16: Links – Teilnehmerinnen am vierten Mütterwochenende; rechts – Mag. Eva-Maria Roth

Das Feedback der Mütter war Auslöser dafür, eine ähnliche Veranstaltung auch für Väter bzw. männliche Partner von erwachsenen EB-Betroffenen anzubieten. Auch die männlichen Teilnehmer waren von diesem Wochenende begeistert, biete es doch die Möglichkeit, einmal im Jahr aus einer besonderen Belastungssituation auszusteigen.



Abb.17: Das erste Väter-/Männerwochenende

6.8 Das 15. Jahrestreffen von DEBRA Austria

Selbsthilfe und der Erfahrungsaustausch unter den Betroffenen ist bei einer seltenen und folgenschweren Erkrankung wie Epidermolysis bullosa ganz besonders wichtig. Daher freuen sich alle Mitglieder von DEBRA Austria auf das jährliche Treffen in Salzburg. Besonders harmonisch verlief das 15. Jahrestreffen, das wir mit einem Doppeljubiläum begehen konnten, denn zugleich wurde das EB-Haus Austria 5 Jahre alt.



Abb. 18: Gruppenbild: die „DEBRA-Familie“ beim Jahrestreffen in St. Virgil, Salzburg

7 Finanzen

7.1 Gewinn- und Verlustrechnungen 2010

Gewinn- und Verlustrechnung vom 1.1.2010 bis 31.12.2010	
DEBRA Austria, Interessengemeinschaft Epidermolysis bullosa	
Mitgliedsbeiträge	4.102
Zahlscheinaktion DM (saldiert)	2.003.528
Spenden	533.917
Sonstige betrieblich Erträge	1.628
Erlöse	2.543.175
Personalaufwand DEBRA	249.593
Kostenersätze	8.500
Büroaufwand	6.365
Porto	10.247
Telefonkosten	9.964
Werbung u. Öffentlichkeitsarbeit	53.271
Tagungs- u. Reisekosten	10.795
Mitgliederaufwand	73.017
Zahlungsverkehrsaufwand	83.131
Instandhaltungen	4.278
Prüfungs- u. Beratungskosten	39.237
AFA	7.637
GWG	3.484
Sonstiges	4.262
EB-Haus: Personalkosten	176.464
EB-Haus: Sachkosten	32.010
Forschungsaufwand	49.682
Aufwendungen	821.937
Betriebsergebnis	1.721.238
Finanzergebnis	59.828
Jahresüberschuss	1.781.066

Gewinn- und Verlustrechnung vom 1.1.2010 bis 31.12.2010	
DEBRA Austria, Verein zur Förderung der Epidermolysis bullosa Forschung	
Mitgliedsbeiträge	798
Spenden	449.378
Eigenveranstaltungen (saldiert)	33.949
Sonstige betriebliche Erträge	43.150
Erlöse	527.275
Werbung und Öffentlichkeitsarbeit	3.006
Tagungs- und Reisekosten	11.740
Zahlungsverkehrsaufwand	1.636
Miete und Betriebskosten	22.140
Prüfungs- u. Beratungskosten	16.343
Forschungsaufwand	519.108
EB-Haus: Personalkosten	445.390
EB-Haus: Sachkosten	209.034

Sonstige Aufwendungen	1.786
Aufwendungen	1.230.184
Betriebsergebnis	-702.908
Finanzergebnis	5.748
Jahresüberschuss	-697.160

7.2 Haushaltspläne 2011

DEBRA Austria - Plan 2011		
	Interessengemeinschaft EB	Förderung d. EB-Forschung
Mitgliedsbeiträge	4.000	1.000
Spenden	1.996.000	220.000
Erlöse	2.000.000	221.000
Personalaufwand DEBRA	253.000	---
EB-Haus: Ambulanz	950.000	---
EB-Forschung	1.200.000	150.000
Büroaufwand und Betriebskosten	25.000	---
Büromiete und -betriebskosten	---	23.000
Werbung u. Öffentlichkeitsarbeit	46.000	5.000
Tagungs- u. Reisekosten	11.000	4.000
Mitgliederaufwand	85.000	---
Zahlungsverkehr	64.000	---
Buchhaltungs- und Prüfungskosten	22.000	10.000
AFA, GWG, Instandhaltung	17.000	---
Sonstiges	8.000	4.000
Aufwendungen	2.681.000	196.000
Betriebsergebnis	-681.000	25.000
Finanzergebnis	50.000	6.000
Jahresüberschuss	-631.000	31.000



Dr. Rainer Riedl
 (Obmann)
 DEBRA Austria
 Am Heumarkt 27/3
 1030 Wien

rainer.riedl@debra-austria.org
www.schmetterlingskinder.at