

Mikroglia in Leipzig

Kleine Kämpfer ganz groß

■ **Tastend und fühlend gehen Mikrogliazellen im Gehirn auf Streife – jederzeit bereit, Angreifer zur Strecke zu bringen. Was sie dazu aktiviert, ist gar nicht so leicht zu studieren.**

Zum Gehirn haben weder die Zellen des Immunsystems noch Antikörper Zutritt, das verhindert die Blut-Hirn-Schranke. Aber auch die Denk- und Schaltzentrale des Menschen muss verteidigt und geschützt werden. Diese Aufgabe kommt den Mikroglia zu. Die im Vergleich zu anderen Zellen des Nervengewebes tatsächlich recht kleinen Mikroglia machen etwa 10 Prozent aller Zellen des Gehirns aus und erfüllen ihren Zweck über erstaunliche Mechanismen.

Der Sicherheitsdienst des Gehirns

Im ruhenden Zustand überwachen die Mikroglia mit ihren beweglichen, filigranen Ausläufern das Hirngewebe. Sie tasten das sie umgebende Gewebe ab, wobei jede Mikrogliazelle ihr eigenes Territorium



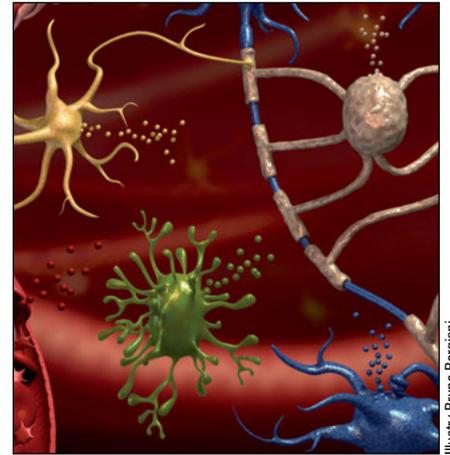
Aktivierungs-Spezialist: Robert Kraft

besitzt. Sie sind so effizient, dass sie das gesamte Gehirn in wenigen Stunden komplett scannen können. Wird eine Unregelmäßigkeit festgestellt, wechselt die Mikroglia in einen aktiven Zustand und wird mobil. So gelangt sie zum Ort des Geschehens und nimmt ihre Verteidigungstätigkeit auf. Mikroglia können beispielsweise Zellwandbestandteile von Bakterien oder pathogene Partikel wahrnehmen. Sie erkennen aber auch Moleküle wie ATP und ADP, die im Gehirn normalerweise nicht extrazellulär vorkommen. Wenn doch, deutet das auf Verletzungen der Nervenzellen hin.

Wie die Signalkaskade funktioniert, die Mikrogliazellen aktiviert, daran forschen Robert Kraft und seine Mitstreiterin Marlen Michaelis am Carl-Ludwig-Institut für Physiologie in Leipzig. Der Biophysiker Kraft hat sich der Erkundung der Funktionsweise des Gehirns verschrieben. 2005 stieß er zur Abteilung von Jens Eilers, die sich hauptsächlich mit der Calciumsignalgebung bei der synaptischen Übertragung befasst. Nach seinem Studium an der Humboldt-Universität in Berlin promovierte Kraft am Institut für Pathologie in Jena.

„Nach dem doch recht theoretischen Studium driftete ich dort in das Experimentelle ab. In meiner Doktorarbeit beschäftigte ich mich unter anderem mit der Frage, welche Rolle Ionenkanäle bei Hirntumoren spielen“, beschreibt Kraft seinen Werdegang.

Seine Forschung an Mikroglia ist keineswegs einfach. Schon in der Anzucht der empfindlichen Mikrogliazellen treten erste Probleme auf. „Es ist schwer, sie in der Zellkultur in einem ruhenden Zustand



Illustr.: Bruno Borgiani

Ruhende Mikrogliazelle (grün) wartet zwischen Neuronen, Astrozyten und Oligodendrozyten auf Aktivierung.

zu halten“, erklärt Kraft. Schon wenn die Bedingungen minimal schwanken, wechseln die Mikroglia in den aktiven Zustand. Es ist deshalb schwierig, die Zellen gezielt zu aktivieren und die Ergebnisse eindeutig auszuwerten.

Die Aktivierung der Mikroglia

Mikroglia erkennen ATP und ADP, die Indikatoren für eine verletzte Nervenzelle, über ihre Purinrezeptoren. Unter ihnen befinden sich die P2Y-Rezeptoren (G-Protein-gekoppelte Nukleotid-Rezeptoren). Wenn diese Rezeptoren ein Purin detektieren, vermitteln die gekoppelten G-Proteine einen Einstrom von Ca^{2+} -Ionen aus dem Endoplasmatischen Retikulum (ER) in das Zytosol. STIM (*stroma interaction molecules*)-Proteine erkennen die Veränderung der Ca^{2+} -Konzentration. Als Sensoren messen sie ständig den Ca^{2+} -Gehalt des ER.

Bei einem Abfall der Ca^{2+} -Konzentration interagieren die STIM-Proteine mit den Orai-Kanalproteinen. Die Öffnung der Ionenkanäle führt zu einem weiteren Calciumionen-Einstrom aus dem extrazellulären Raum und zu einem Ca^{2+} -Signal, das über mehrere Minuten bis zu einer Stunde anhält. Diesen Mechanismus nennt man „speicherabhängigen Ca^{2+} -Einstrom“ (*store-operated Ca^{2+} -entry, SOCE*). Als Reaktion darauf wechselt die Mikrogliazelle in die aktive Form und folgt dem ATP/ADP-Signal zu seinem Ursprung. Das Zusammenspiel zwischen STIM und Orai wurde 2006 zum ersten Mal beschrieben (*Nature* 441, 179-185).

Mit dem Wechsel vom ruhenden in den aktiven Zustand erlangen Mikrogliazellen auch die Fähigkeit zur Phagozytose, also zum Verschlingen von zellulären Bruchstücken und anderem Unrat. Die Phagozytose ist für die Verteidigungsfunktion der Mi-

kroglia im Gehirn unerlässlich, denn das Gewebe muss von schädlichen Partikeln, bakteriellen Eindringlingen und verletzten Nervenzellen gereinigt werden.

Und auch bei der Aktivierung der Phagozytose spielen STIM und Orai eine wichtige Rolle. Die Fresstätigkeit der Mikrogliazellen setzt ein, wenn P2Y₆-Purinrezeptoren UDP oder auch UTP im extrazellulären Raum erkennen. Wie auch bei der Aktivierung der Zellen über die P2Y₁₂-Rezeptoren, die ADP und ATP erkennen, erfolgt erst ein Ca²⁺-Einstrom aus dem ER, gefolgt von einem langanhaltenden, STIM- und Orai-vermittelten Ca²⁺-Signal.

Daneben spielt die Phagozytose der Mikroglia auch bei der Gehirnentwicklung eine entscheidende Rolle. „In der neuronalen Entwicklung müssen überflüssige synaptische Verbindungen wieder gekappt werden“, erklärt Kraft eine weitere Funktion der Mikroglia, „Dieses *synaptic pruning* wird über die Mikroglia sichergestellt. Eine Fehlfunktion der Zellen könnte damit zu Entwicklungsstörungen des Organismus führen.“

Würzburger Connections

Zu der aktuellen Forschung an den STIM- und Orai-Proteinen kamen die Leipziger über eine Kooperation mit Bernhard Nieswandt von der Universität Würzburg. „Die Forscher in Würzburg stellten fest, dass ein Knockout von STIM2 in Mäusen vor Hirninfarkten schützt (*Sci. Signal.* Vol. 2: ra67). Da sie keine Hinweise darauf finden konnten, dass diese Beobachtung im Zusammenhang mit den Blutplättchen steht, dem Hauptgegenstand ihrer Forschung, folgerten sie, dass der Schutzeffekt direkt im Nervengewebe zustande kommen muss. Hier kamen wir Leipziger Neurophysiologen ins Spiel“, beschreibt Robert Kraft den Einstieg in seine gegenwärtige Forschung. Sie konnten schließlich zeigen, dass STIM2 den Ca²⁺-Einstrom in den Neuronen reguliert. „Das war der Ausgangspunkt dafür, sich näher mit den Ca²⁺-Sensoren zu beschäftigen“.

Mit der Funktion und der Bedeutung von STIM-Sensoren und Orai-Proteinen hat sich Marlen Michaelis im Rahmen ihrer Promotion beschäftigt (*Glia*, doi:10.1002/glia.22775; vorab online veröffentlicht). Im Genom der Mikrogliazellen von Säugtieren liegen zwei *Stim*-Gene und drei *Orai*-Gene vor. Während beide *Stim*-Versionen exprimiert sind, wird nur *Orai1* in größeren Mengen transkribiert. Michaelis und Kraft analysierten nun, wie STIM- bzw. *Orai1*-defiziente Mikroglia auf ATP und ADP reagieren. Die Migration der

Mikroglia maßen sie mit Hilfe einer Boyden-Kammer, einem speziellen Zellkulturgefäß. In diesem Versuchsaufbau müssen in einem ATP-freien Medium herangewachsene Mikroglia eine Art Lochplatte passieren, um in eine ATP-reiche Lösung zu gelangen. Die amöboide Struktur der aktivierten Mikroglia erlaubt den Zellen, sehr enge Zwischenräume zu passieren. Nach einer gewissen Zeit werden die Mikroglia auf der ATP-freien Seite entfernt und die Zellen gezählt, die die Lochplatte passiert haben. Sowohl *Stim1*^{-/-}- als auch *Stim2*^{-/-}- und *Orai1*^{-/-}-Zellen zeigten dabei eine signifikant verringerte Migration.

„Schluckbeschwerden“

Ebenso verhielt es sich mit der Phagozytoseaktivität der Zellen. Für dieses Experiment kamen bestimmte Glucose-haltige Bestandteile aus der Zellwand der Bierhefe *Saccharomyces cerevisiae* zum Einsatz, sogenannte Zymosan-Partikel.

Diese Partikel wurden für den Versuch fluoreszenzmarkiert und zur Zellsuspension gegeben. Auf einer Unterlage fixierte Knockout-Zellen nahmen nach Zugabe von UDP deutlich weniger Zymosan-Partikel auf als Wildtyp-Zellen. Die beiden Versuche zeigten, dass STIM und *Orai1* für die Funktion der Mikroglia unerlässlich sind.

Fehlfunktion mit Folgen

Durch die Kooperation mit der Universität Würzburg standen den Leipziger Forschern auch Knockout-Mäuse zur Verfügung, die die Bedeutung der STIM- und Orai-Proteine im Organismus zeigen. „Da STIM und Orai in allen Zellen des Immunsystems vorkommen, haben die Tiere eine schwächere Immunabwehr. Zusätzlich zeigen sie ein verzögertes Wachstum“, beschreibt Kraft die Auswirkungen des Knockouts auf die Versuchstiere. Auch beim Menschen führen STIM1- und *Orai1*-Defekte zu einer Immundefizienz. Effekte bei neurodegenerativen Erkrankungen sind ebenfalls möglich. Beispielsweise vermutet man, dass eine verminderte Mikrogliaaktivität die bei der Alzheimerkrankheit entstehenden Plaques im Gehirn begünstigen. Könnte man die Zellen beispielsweise durch Zugabe von UDP verstärkt aktivieren, würden diese die Plaques möglicherweise besser entfernen. Doch Kraft gibt sich da keinen Illusionen hin: „Wir betreiben hier Grundlagenforschung. An der Anwendung muss noch viel geforscht werden.“

JETTE SCHIMMEL

Alle Produkte
direkt online
bestellbar ...



... im

INTERNET-SHOP

unter www.carlroth.de!

+ Neuheiten
+ Aktionsangebote



Direkt und kostenfrei bestellen
auch unter 0800/5699 000
oder
bestellungen@carlroth.de

Laborbedarf - Life Science - Chemikalien

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 - 76185 Karlsruhe

Tel: 0721/5606 0 - Fax: 0721/5606 149

info@carlroth.de - www.carlroth.de

