



Forschergruppe (FOR 2289)

Kalzium-Homöostase bei Neuroinflammation und -degeneration: Neue Ansätze für die Therapie der Multiplen Sklerose?



Im Januar 2016 konnte die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft bewilligte Forschergruppe 2289 ihre Arbeit an den Standorten Heidelberg, Homburg, Münster und Hamburg aufnehmen. Beteiligte Institutionen sind die Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, die Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, die Medizinische Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster und das Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Die Forschergruppe setzt sich aus Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern verschiedener Institutionen und Fachdisziplinen zusammen (Anatomie, Biophysik, Neurobiologie, Pharmakologie, Physiologie sowie experimentelle und klinische Neurologie und Neuroimmunologie) und verfolgt das Ziel, kalziumabhängige Krankheitsprozesse der Multiplen Sklerose (MS) zu erkennen, innovative Methoden insbesondere der Bildgebung zu entwickeln und Angriffspunkte für neue Therapien zu finden.

In den letzten Jahren erfolgte Paradigmenwechsel im Verständnis der MS [1, 2] haben zu unterschiedlichen Hypothesen im Hinblick auf die Sequenz pathophysiologischer Abläufe geführt. Insbesondere rückte die Frage in den Vordergrund, welche Zelltypen initial betroffen sind und weitere pathologische Veränderungen in Gang setzen. Unabhängig von der formalen Klassifikation der MS als primär inflammatorische, als neurodegenerative oder gliale Erkrankung, spielen kalziumabhängige Regulationsprozesse zentrale Rollen in allen betroffenen „Kompartimenten“, im Immunsystem, den zellulären

Bestandteilen der Bluthirnschranke, in Gliazellen und Neuronen/Axonen. Kalziumionen sind dabei nicht nur intrazelluläre Signale, sondern beeinflussen über ihre Beteiligung an Exozytose/Endozytose, Transkription, Zellmigration und Erregungsweiterleitung ganz entscheidend die Kommunikation und Interaktion der verschiedenen oben genannten „Kompartimente“.

Aufgrund des ubiquitären Vorkommens von Kalzium und seiner Bedeutung für intrazelluläre und interzelluläre Signalwege, die komplexen Netzwerkprozessen unterliegen, ist ein besseres Verständnis derjenigen Faktoren, die bei der MS zu Störungen der Kalzium-Homöostase führen, essenziell. Daraus ließen sich im nächsten Schritt therapeutische Ansätze ableiten, die parallel an mehreren pathophysiologischen Mechanismen ansetzen und Zelltyp- und/oder Krankheitsstadien-spezifische Therapien ermöglichen könnten.

Störungen der Kalzium-Homöostase zu identifizieren und zu charakterisieren und deren Determinanten als Zielmoleküle neuer Therapien zu validieren, hat sich die Forschergruppe FOR2289 zur Aufgabe gestellt. Hierzu arbeiten die neun Teilprojekte (Abb. 1) der FOR 2289 eng vernetzt an folgenden Themen:

- Kanäle/Eintrittsporten für Kalzium, die relevant sind für Veränderungen der intrazellulären Kalziumkonzentration in verschiedenen, an der MS-Pathophysiologie beteiligten Zelltypen
- kalziumabhängige Wege der inter- und intrazellulären Signalvermittlung

- Beeinträchtigung mitochondrialer Funktionen in Nervenzellen und Störungen im Energiehaushalt
- Kalziumsignale als Bindeglied zwischen Immunzellfunktion, Störungen der Bluthirnschranke und neurodegenerativen Prozessen

Sämtliche Projekte der Forschergruppe kombinieren elektrophysiologische, molekular- und zellbiologische Methoden, *State-of-the-Art* Mikroskopie-Techniken und/oder durch experimentelle Kontrastmittel gestützte MRT-Bildgebung mit Arbeiten an MS-Modellen. Dabei ist das visuelle System von besonderem Interesse: Es ist regelmäßig im Rahmen einer MS betroffen und die Entzündung des Sehnerven stellt eine der häufigsten Erstmanifestationen der Erkrankung dar. Gleichzeitig ist das visuelle System anatomisch gesehen streng kompartimentalisiert. Diese besondere Eigenschaft erlaubt funktionelle, bildgebende und morphologische Studien der verschiedenen „Kompartimente“ mit separater Untersuchung der in der Retina gelegenen Ganglienzellkörper sowie deren Axone, die den Sehnerven bilden. Die lange Projektion der Axone des Sehnerven in die Colliculi superiores erlaubt die Anwendung von Techniken, die auf retrogradem oder anterogradem Transport von Fluoreszenzfarbstoffen, Kalzium-Imaging-Indikatoren, genetisch kodierten Reportern, Toxinen oder viralen Vektoren basieren. Der wesentliche Aspekt, der für die Untersuchung gerade retinaler Veränderungen spricht, besteht darin, dass Neurodegeneration dort bereits

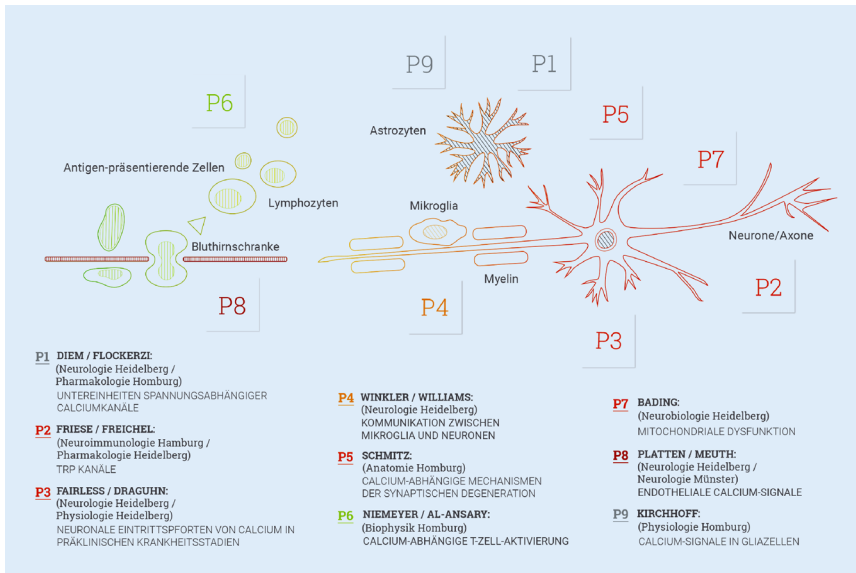


Abb. 1 ▲ Dargestellt sind die pathophysiologischen Abläufe bei einer multiplen Sklerose und die jeweiligen thematischen Ansatzpunkte der neun Teilprojekte der Forschergruppe FOR 2289. Von links nach rechts: Autoreaktive Lymphozyten überwinden die Blut-Hirn-Schranke und werden im ZNS reaktiviert. Es kommt zu einer Immunattacke gegen Myelinscheiden, einer Aktivierung von Mikroglia und einer Astrozytose. Axone und Neurone werden früh im Krankheitsverlauf geschädigt (© brandherde)

in der präklinischen Phase der Sehnervenentzündung auftritt [3]. Dabei handelt es sich um einen unerwarteten Befund, da die Retina ein Organ ist, welches – abgesehen von seltenen Normvarianten – kein Myelin enthält, Myelin jedoch als primäres Angriffsziel der Immunattacke bei der Entzündung des Sehnerven bei der MS gilt. Darüber hinaus ist das Ausmaß an Neurodegeneration in der Retina bei der MS nicht nur mit chronischer Sehbehinderung korreliert, sondern auch mit MS-bedingter zerebraler Atrophie sowohl der weißen als auch der grauen Substanz [4]. Dies macht die Sehnerventzündung zu einer Modellerkrankung, an der generelle Mechanismen der entzündungsassoziierten Neurodegeneration untersucht werden können und die eine Translation von durch die Forschergruppe identifizierten therapeutischen Ansätzen in klinische Studien mit überschaubaren Fallzahlen und klinisch erprobten Studienparametern möglich macht.

Die Projekte 1–3 sind thematisch und methodisch eng verknüpft in ihrem Fokus auf kalziumleitende Kanäle oder deren Untereinheiten, die den Krankheitsprozess der Sehnerventzündung/MS durch Wirkungen an sämtlichen beteiligten „Kompartimenten“ (Abb. 1) beeinflus-

sen könnten. Dabei untersucht Projekt 1 (Diem/Flockerzi; Neurologie Heidelberg/Pharmakologie Homburg) die $\beta 3$ -Untereinheit des spannungsabhängigen Kalziumkanals CaV 2.2 und richtet in diesem Rahmen ein besonderes Augenmerk auf kanalunabhängige Funktionen. Obwohl es sich bei CaV 2.2 um einen neuronalen Kanal handelt, gibt es Hinweise auf ein „Eigenleben“ seiner akzessorischen Untereinheit $\beta 3$ in nicht neuronalen Zelltypen [5]. Während die Studien von Projekt 2 (Freichel/Frieese; Pharmakologie Heidelberg/Neuroimmunologie Hamburg) sich auf die Rolle einer, bei erworbenen Erkrankungen des ZNS noch weitgehend unbekanntem Kanalfamilie, den TRP (*transient receptor potential*)-Kanälen in akuten Krankheitsstadien richten, untersucht Projekt 3 (Fairless/Draguhn; Neurologie Heidelberg/Physiologie Heidelberg) Veränderungen der Kalzium-Homöostase in der Retina während der Krankheitsentstehung. In dieser Phase degenerieren retinale Ganglienzellen, obwohl die Sehnerven weder entzündliche Infiltrate noch Demyelinisierung zeigen [3]. In Projekt 3 kommen u. a. elektrophysiologische Techniken wie verschiedene Patch-Clamp-Verfahren und Kalzium-Imaging zur Anwendung, um Eintrittspforten für Kalzium in retinalen

Hier steht eine Anzeige.



Ganglienzellen zu identifizieren, die eine toxische Kalziumüberladung dieser Neurone mit verursachen könnten. Unmittelbar vernetzt damit sind die Arbeiten von Projekt 4 (Winkler/Williams; Neurologie Heidelberg), welches ein neu entwickeltes Verfahren des 2-Photonen-Imagings der Retina mit *in vivo* Kalzium-Imaging-Methoden kombiniert, um die Kommunikation zwischen Mikrogliazellen und retinalen Ganglienzellen darzustellen. Kalziumsignale, die der Kommunikation zwischen einzelnen Gliazelltypen dienen, werden in Projekt 9 (Kirchhoff, Molekulare Physiologie Homburg) ebenfalls mithilfe des 2-Photonen-Imagings und genkodierter, zellspezifischer Indikatorexpression untersucht. Genetisch kodierte Kalziumindikatoren kommen auch in Projekt 7 (Bading; Neurobiologie Heidelberg) zur Anwendung, in welchem Störungen der Homöostase von zytosolischem und mitochondrialem Kalzium in retinalen Neuronen untersucht werden. Projekt 7 geht der Frage nach, ob mitochondriale Dysfunktion und Energieinsuffizienz der frühen Degeneration von retinalen Ganglienzellen bei der Optikusneuritis zugrunde liegen.

Die kalziumabhängige Degeneration von Synapsen in der Retina und mögliche, über die Schädigung retinaler Ganglienzellen hinausgehende pathophysiologische Veränderungen sind Schwerpunkte der in Projekt 5 (Schmitz; Anatomie Homburg) bearbeiteten Fragestellungen. So sind Veränderungen der Retina, die sich nicht auf die retinale Nervenfaserschicht oder retinale Ganglienzellkörper beschränken, erst vor Kurzem bei der Sehnerventzündung des Menschen entdeckt worden [6]. Zur Untersuchung von Funktionsstörungen in Photorezeptorsynapsen werden im Projekt 5 Reporter-Mauslinien eingesetzt, die es erlauben, Änderungen der synaptischen Kalziumkonzentration sowie Störungen von Endo- und Exozytosemechanismen zu erfassen. Kalziumabhängige Mechanismen der T-Zellaktivierung in der Peripherie, die Bildung autoreaktiver T-Zellen und Unterschiede in der Kalziumsignatur verschiedener T-Zellsubtypen werden im Projekt 6 (Niemeyer/Alansary; Biophysik Homburg) untersucht. Dabei werden Zellen verschiedener MS-Krankheitsstadien verglichen. Eng verzahnt damit sind

die Studien in Projekt 8 (Platten/Meuth; Neurologie Heidelberg/Neurologie Münster), die kalziumabhängige Prozesse an der Bluthirnschranke einschließlich der Kommunikation von T-Zellen und Endothel untersuchen. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf der Rolle von Abbauprodukten der Aminosäuren Tryptophan und Arginin, die möglicherweise mit kalziumleitenden Kanälen interagieren und Einfluss nehmen auf die Durchlässigkeit der Bluthirnschranke und damit auf einen Schlüsselprozess der Krankheitsentstehung.

Die Forschergruppe FOR 2289 strebt mit ihren Arbeiten an, den Beitrag erworbener Ionenkanalstörungen, Veränderungen des zellulären Energiehaushaltes und der intra- und interzellulären Signalgebung im Hinblick auf Störungen der Kalzium-Homöostase im Rahmen neuroinflammatorischer und neurodegenerativer Erkrankungen zu identifizieren. Hierzu wurden Arbeitsgruppen aus der vorklinischen, der klinisch-theoretischen und der klinischen Medizin zusammengeführt, die dieses Ziel mit ausgeprägt interdisziplinären experimentellen und konzeptionellen Ansätzen verfolgen. Hiermit fokussiert sich die Forschergruppe auf einen bisher wenig untersuchten Aspekt der MS-Pathophysiologie, auf Störungen der Kalzium-Homöostase, und wir gehen davon aus, dass dieser Ansatz das Verständnis der Pathophysiologie der MS erweitern wird und Strategien für neue Therapien liefern könnte.

Die Forschergruppe 2289 wird sich auch anlässlich des 12. Göttinger Meetings der Deutschen Neurowissenschaftlichen Gesellschaft am 23.03.17 in einem Symposium vorstellen.

Homepage FOR 2289: www.for2289.de

Literatur

1. Stys PK, Zamponi GW, van Minnen J, Geurts JGG (2012) Will the real multiple sclerosis please stand up? *Nat Rev Neurosci* 13:507–514
2. Trapp BD, Nave KA (2008) Multiple Sclerosis: An immune or neurodegenerative disorder? *Ann Rev Neurosci* 31:247–269
3. Fairless R, Williams SK, Hoffmann D, Stojic A, Hochmeister S, Schmitz F, Storch MK, Diem R (2012) Preclinical retinal neurodegeneration in a model of multiple sclerosis. *J Neurosci* 32:5585–5597
4. Saidha S, Al-Louzi O, Ratchford JN, Bhargava P, Oh J, Newsome SD, Prince JL, Pham D, Roy S, van Zijl P, Balcer LJ, Frohman EM, Reich DS, Crainiceanu C, Calabresi PA (2015) Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: A four-year study. *Ann Neurol* 78(5):801–813
5. Hofmann F, Belkacemi A, Flockezi V (2015) Emerging alternative functions of the auxiliary subunits of the voltage-gated calcium channels. *Curr Mol Pharmacol* 8(2):162–168
6. Al-Louzi OA, Bhargava P, Newsome SD, Balcer LJ, Frohman EM, Crainiceanu C, Calabresi PA, Saidha S (2016) Outer retinal changes following acute optic neuritis. *Mult Scler* 22(3):362–372

Korrespondenzadresse



Prof. Dr. med. Ricarda Diem
Sprecherin FOR 2289
Neurologische Klinik
Medizinische Fakultät
Heidelberg
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 400
69120 Heidelberg
Tel.: +49 6221 565770
Fax: +49 6221 566374
E-Mail: ricarda.diem@med.uni-heidelberg.de