

Neue Nervenzellen aus Stammzellen im Hippokampus: ein Modellsystem für Zellersatz im erwachsenen Gehirn

Neurogenesis in the adult hippocampus: a model system for neuronal cell replacement in the adult brain

Institut für Entwicklungsgenetik

Dieter Chichung Lie

Neurale Stammzellen sind undifferenzierte Zellen mit der außergewöhnlichen Fähigkeit, sich durch Zellteilung selbst zu erneuern und in alle Zellarten des Zentralnervensystems (ZNS) zu differenzieren (Abb. 1). Ihr einzigartiges Wachstums- und Differenzierungs-Potential wird vor allem während der embryonalen Entwicklung deutlich. In dieser Zeit bilden neurale Stammzellen durch massive Zellteilung und Differenzierung Milliarden neuer Nervenzellen, die zelluläre Grundlage der komplexen Netzwerke des ZNS. Auch nach Abschluss der Entwicklung kommen neurale Stammzellen im gesamten ZNS vor; die Bildung neuer Nervenzellen wird in den meisten Regionen des ZNS jedoch kurz nach der Geburt eingestellt – mit zwei Ausnahmen: In der subventrikulären Zone des Vorderhirns und im Hippokampus, einer Gehirnstruktur mit zentraler Bedeutung für Lernen und Gedächtnis, entstehen auch im Erwachsenenalter kontinuierlich neue Nervenzellen.

Unsere Arbeitsgruppe untersucht die molekularen und zellulären Prozesse, die die Bildung neuer Nervenzellen durch neurale Stammzellen im Hippokampus regulieren. Die Aufklärung dieser Prozesse ist unter klinischen und neurobiologischen Aspekten von außerordentlichem Interesse, denn neuere Forschungsergebnisse weisen dar-

Many adult organs have an extensive ability to compensate for cell loss from injury and disease by generating new mature cells. These new cells are derived from immature cells – stem cells – that are characterised by the ability to proliferate and to differentiate into organ specific mature cells. Lack of such stem cells and the resulting inability to replace dying neurons have for a long time been held responsible for the vulnerability of the adult CNS to disease and injury. In recent years, proliferating cells with the potential to generate astrocytes, oligodendrocytes, and neurons have been isolated from many adult CNS regions. The surprising find of the existence of neural stem cells in multiple adult CNS regions is, however, at odds with the relative paucity of generation of new nerve cells during adulthood (adult neurogenesis), which is restricted to the hippocampal dentate gyrus and the subventricular zone (SVZ) of the lateral ventricle. In all other adult CNS regions examined so far, neural stem cells exclusively generate new glial cells.

Our group studies the cellular and molecular processes that regulate the generation of new neurons from neural stem cells in the adult hippocampus. Current results indicate that the generation of new hippocampal neurons may have a crucial function

auf hin, dass die neuen hippocampalen Nervenzellen möglicherweise eine Rolle spielen für Hippokampus-abhängige Lern- und Gedächtnisprozesse. Weiterhin könnten solche Untersuchungen neue Möglichkeiten eröffnen, neurale Stammzellen auch in anderen Regionen des erwachsenen ZNS zur Bildung neuer Nervenzellen anzuregen. Das könnte für die Behandlung von Patienten mit Parkinson oder Schlaganfall von großem Nutzen sein; beide Erkrankungen gehen mit erheblichen Verlusten von Nervenzellen einher.

in hippocampus-dependent learning and memory. Thus, characterisation of the regulatory mechanisms underlying hippocampal neurogenesis are not only of basic neurobiological interest but may also be of great clinical interest, given that several neurological diseases have a negative impact on hippocampus-dependent cognitive performance. In addition, the identification of the molecular pathways that control the generation of neurons from neural stem cells may ultimately help in the design of new therapeutic approaches in central nervous system disorders that aim at the recruitment of neural stem cells for replacement of dying neurons.

Stammzellen, eine Quelle neuer Zellen im erwachsenen Organismus

In zahlreichen Organen des menschlichen Körpers wie Haut, Blut und Darm gehen aufgrund physiologischer Abnutzung oder wegen einer beschränkten Lebensdauer ständig Zellen verloren oder sterben ab. Dennoch können diese Organe ihre für den Organismus lebenswichtige Funktion auf-

recht erhalten, was vor allem durch den Ersatz der verloren gegangenen Zellen gewährleistet wird. Ursprung dieser neuen Zellen sind Stammzellen, die in vielen Organen auch im Erwachsenenstadium zu finden sind. Da Stammzellen sich in organ-spezifische, reife Zellen differenzieren können, vermag jede Stammzelle eine große Anzahl abgestorbener Zellen zu ersetzen. Die enorme Fähigkeit zur Regeneration zeigt sich vor allem bei Erkrankungen und Verletzungen. Blutstammzellen sind beispielsweise in der Lage, auch große Blutverluste über einen relativ kurzen Zeitraum auszugleichen.

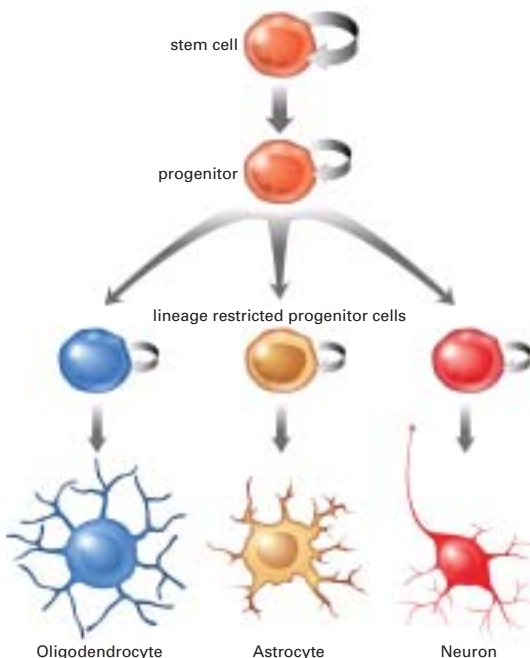


Abb. 1: Stammzellen können durch Zellteilung und nachfolgende Differenzierung alle Zelltypen des erwachsenen Zentralnervensystems – Neuronen, Astrozyten und Oligodendrozyten – generieren.

Das Gehirn, eine Ausnahme mit Ausnahmen

Das erwachsene Gehirn ist dagegen nur bedingt zur Regeneration fähig. Lange Zeit nahm man an, nach Abschluss der Gehirnentwicklung könnten keine neuen Nervenzellen entstehen, und im Erwachsenenalter durch Erkrankung zugrunde gehende Nervenzellen könnten nicht ersetzt werden. Das führte man in erster Linie darauf zurück, dass es im erwachsenen Gehirn keine Stammzellen gibt. Diese Annahmen treffen aber nur eingeschränkt zu. In der Tat werden abgestorbene Nervenzellen nicht oder nur in geringem Maße ersetzt. Doch haben For-

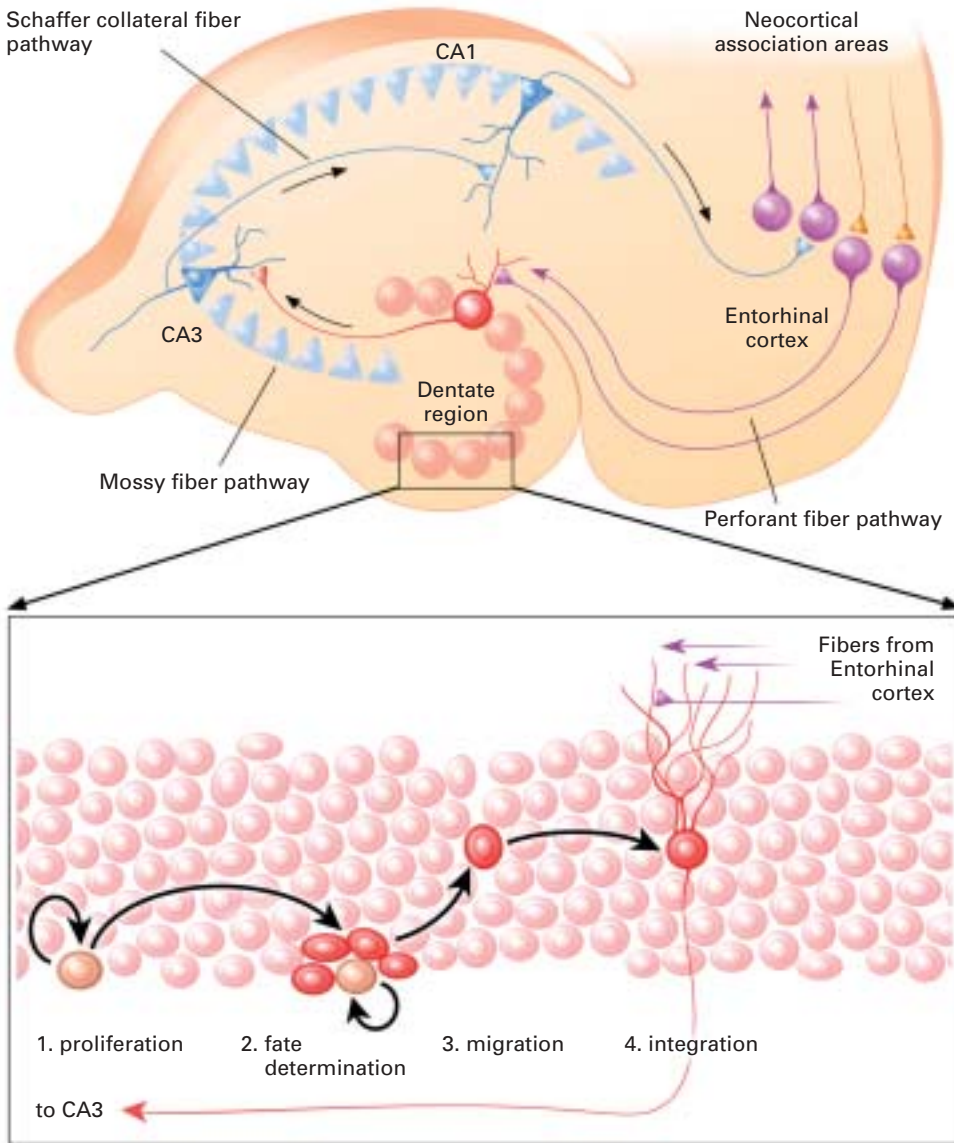


Abb. 2: Modell für die Neurogenese im Gyrus dentatus des erwachsenen Hippokampus.
 1. und 2. Proliferation und neuronale Differenzierung: Stammzellen (braun) in der subgranulären Zone des Gyrus dentatus bilden transitorisch amplifizierende Zellen, die in unreife Nervenzellen differenzieren (rot).
 3. Migration: Unreife Nervenzellen wandern tiefer in die Körnerzellschicht ein.
 4. Integration: Unreife Nervenzellen reifen zu funktionellen Körnerzellen, die Verbindungen mit dem entorhinalen Cortex und der CA3-Region eingehen.

schungsergebnisse der letzten Jahre gezeigt, dass in vielen Regionen des erwachsenen Gehirns Stammzellen existieren, die stark proliferieren und sich in alle reifen Zelltypen des Gehirns differenzieren können. Interessanterweise bilden diese Stammzellen aber trotz ihres breiten Differenzierungs-

potentials in den meisten Regionen keine Nervenzellen, sondern nur Astrozyten und Oligodendrozyten, neben den Nervenzellen die Hauptzellarten des Gehirns. Ausnahmen sind die subventrikuläre Zone des lateralen Ventrikels im Vorderhirn und der Gyrus dentatus des Hippokampus: In diesen Area-

len bilden Stammzellen auch im Erwachsenenalter kontinuierlich neue Nervenzellen, die in die bestehenden Nervenzellnetzwerke integriert werden (Abb. 2).

Neue Nervenzellen im Hippokampus: ein zellulärer Mechanismus für Lernen und Gedächtnis?

Dem Hippokampus kommt eine zentrale Bedeutung für Lernen und Gedächtnis zu. Dysfunktion des Hippokampus ist eine Hauptursache für kognitive Einschränkungen im fortgeschrittenen Alter oder bei neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer'schen Krankheit. Studien an Nagetieren zeigten einige in dieser Hinsicht interessante Ergebnisse: Erstens besteht eine Korrelation zwischen der Anzahl neuer Nervenzellen im Hippokampus und der Leistung in Lern- und Gedächtnistests; zweitens sind bei altersabhängigen Beeinträchtigungen der hippokampalen Funktion signifikant weniger neu gebildete hippokampale Nervenzellen zu finden; drittens verbessert sich bei alternden Tieren die hippokampale Gedächtnisleistung, wenn man die Neubildung hippokampaler Nervenzellen experimentell anregt. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass zum einen die Neubildung von Nervenzellen, die Neurogenese, für Hippokampus-abhängige Lern- und Gedächtnisprozesse eine zentrale Rolle spielt, und dass zum anderen eine gestörte Neurogenese zu pathologischen Veränderungen von Lern- und Gedächtnisprozessen im Alter beitragen kann. Eine weitere, kürzlich beschriebene Funktion neu gebildeter hippokampaler Nervenzellen scheint zudem die Modulation von Emotionen zu sein.

Untersuchungen zur Regulation der hippokampalen Neurogenese

Unsere Arbeitsgruppe ist an den zellulären und molekularen Mechanismen interessiert, die die Neubildung von Nervenzellen aus Stammzellen im erwachsenen Hippokampus regulieren. Diese hippokampale Neurogenese besteht aus einer komplexen Sequenz von Proliferations- und Differenzierungs-

schritten, in deren Verlauf aus einer undifferenzierten Stammzelle mit ausgedehntem Proliferationspotential mehrere ausdifferenzierte Nervenzellen entstehen, die in das hippokampale Nervenzellnetzwerk eingebunden sind (Abb. 2). Derzeitige Modelle für diesen Prozess gehen davon aus, dass jeder einzelne Schritt einer strengen Regulation unterliegt. Engmaschiges Regulieren soll gewährleisten, dass die für die uneingeschränkte Hippokampusfunktion notwendige Anzahl an Nervenzellen entsteht. Weiterhin ist eine stringente Kontrolle der Proliferation von Stammzellen notwendig, um beispielsweise die Bildung von Tumoren zu verhindern. Gegenwärtig sind die zellulären und molekularen Mechanismen der Regulation der hippokampalen Neurogenese noch größtenteils ungeklärt.

Modellorganismen für unsere Untersuchungen sind Mäuse und Ratten. Diese Organismen bieten mehrere Vorteile: Sie sind entwicklungsbiologisch nahe mit dem Menschen verwandt, genetische Manipulationen an ihnen sind leicht möglich, und es steht eine große Reihe an Verhaltenstests zur Verfügung, mit denen die hippokampale Funktion geprüft werden kann. Zudem lassen sich aus diesen Tieren leicht Kulturen von Stammzellen des Hippokampus für molekularbiologische, zellbiologische und biochemische Untersuchungen anlegen. Wie Studien an Mäusen und Ratten in den letzten Jahren gezeigt haben, werden die Differenzierung von Stammzellen in hippokampale Nervenzellen und die Integration dieser neuen Nervenzellen in das hippokampale Nervenzellnetzwerk von Signalen aus der Umgebung gesteuert. Welcher Art diese Signale sind und welche molekularen Mechanismen die adulte Neurogenese steuern, ist jedoch noch weitestgehend unbekannt.

Nach solchen Umgebungssignalen suchen wir in einer Studie, die ein Mitglied unserer Arbeitsgruppe am Salk Institute for Biological Studies in La Jolla, USA, begonnen hat und seit März 2005 an der GSF fortführt. Dabei haben wir unser Hauptaugenmerk zunächst auf als Wnt-Familie bezeichnete Signalmoleküle und deren abhängige Signalwege gerichtet. Wnt-Signale steuern während der embryonalen Gehirnentwick-

lung viele Prozesse in Stammzellen. Tatsächlich fanden wir, dass Wnt-Signalmoleküle sehr stark in denjenigen Regionen des Hippokampus exprimiert werden, in denen Stammzellen proliferieren und sich zu Nervenzellen differenzieren, und dass in hippocampalen Stammzellen Rezeptoren für Wnt-Proteine exprimiert werden. Mit Hilfe einer transgenen Reporter-Mauslinie war zudem in dieser hippocampalen Region die Aktivität eines bestimmten Signalwegs nachzuweisen, des Wnt/ β -catenin-Signalwegs. Dieses Expressions- und Aktivitätsmuster ließ darauf schließen, dass Wnt-Proteine und ihre abhängigen Signalwege an der Regulation der Neurogenese im erwachsenen Hippokampus beteiligt sind.

Wir haben daher in der Zellkultur und im erwachsenen Hippokampus untersucht, welchen Effekt Wnt-Signalwege auf das Verhalten hippocampaler Stammzellen ausüben. Es zeigte sich, dass die Blockade dieser Signalwege die Neurogenese fast vollständig hemmt; nach einer Stimulation der Wnt-Signalwege bilden Stammzellen dagegen sowohl in der Zellkultur als auch im adulten Hippokampus vermehrt Nervenzellen (Abb. 3). Offensichtlich spielen Wnt-Signalwege also eine zentrale Rolle bei der Regulation der Neurogenese aus neuronalen Stammzellen im adulten Hippokampus.

Unsere zukünftigen Experimente werden weiterhin darauf abzielen, die molekulare Regulation der adulten hippocampalen Neurogenese zu entschlüsseln. Wegen der Komplexität dieses Prozesses erwarten wir, dass multiple Signalwege regulatorische Netzwerke bilden, die eine genaue Kontrolle gewährleisten und die Rate der Neubildung von Nervenzellen an die funktionellen Bedürfnisse dieser Hirnregion anpassen. Mit der Identifizierung von Wnt-Proteinen als zentrale Regulatoren der adulten hippocampalen Neurogenese haben wir bereits einen entscheidenden Schritt zur Aufklärung dieser regulatorischen Netzwerke getan. Da die hippocampale Neurogenese so wichtig ist für Lernen und Gedächtnis, und weil Störungen dieses Prozesses möglicherweise an pathologischen Veränderungen der kognitiven Leistung beteiligt sind, hoffen wir, dass die Charakterisierung der regulatorischen Mechanismen langfristig neue

Impulse und Strategien für die Therapie altersbedingter Gedächtnisstörungen liefern wird.

Zukünftige Wege: Stimulation der Neurogenese in geschädigten Hirnarealen

Ein weiterer Schwerpunkt unseres Forschungsprogramms gilt der Frage, wie sich die Bildung neuer Nervenzellen in anderen Regionen des erwachsenen Gehirns anregen lässt, etwa in der Substantia nigra. Diese Region ist von speziellem klinischem Interesse: Der Verlust von Nervenzellen in der Substantia nigra ist ein Hauptmerkmal des Morbus Parkinson und für einen Großteil der klinischen Symptome verantwortlich. Die Substantia nigra enthält Zellen, die proliferieren und kontinuierlich neue Astrozyten und Oligodendrozyten, aber keine neuen Nervenzellen bilden (Abb. 4). Die eingehendere Untersuchung zeigte jedoch, dass diese proliferierenden Zellen Eigenschaften von Stammzellen haben und prinzipiell in der Lage sind, neben Astrozyten und Oligodendrozyten auch Nervenzellen zu bilden. Offenbar reichen die Signale in der Substantia nigra aber nicht aus, um ihre

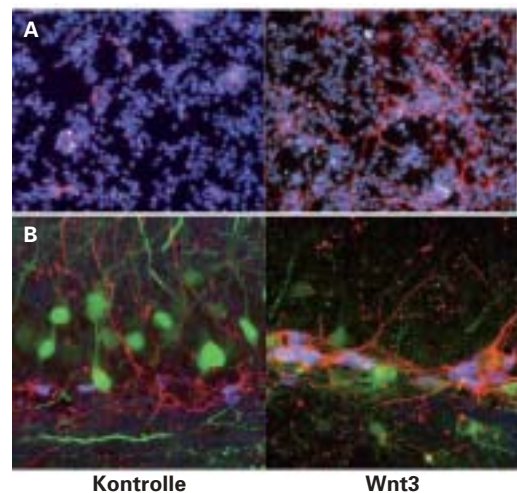


Abb. 3: A: Die Stimulation des Wnt-Signalwegs führt zu einer vermehrten Bildung von Nervenzellen (rot) aus kultivierten Stammzellen (blau). B: Stimulation des Wnt-Signalwegs im Hippokampus reicht aus, um die Anzahl der neugebildeten Nervenzellen (blau und rot) zu erhöhen.

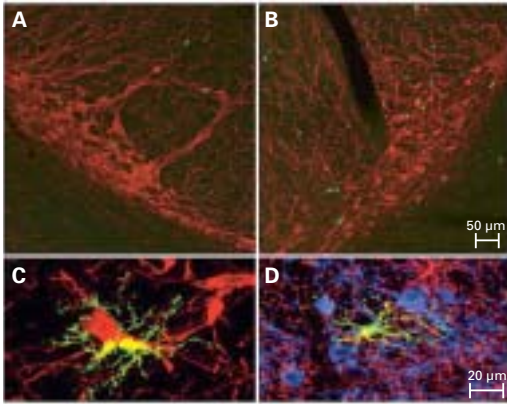


Abb. 4: Proliferierende Zellen (grün) sind in der Substantia nigra des erwachsenen Nagergehirns nachweisbar. Die dopaminergen Nervenzellen, die bei der Parkinsonschen Erkrankung degenerieren, sind rot (A-C) oder blau (D) angefärbt. Diese proliferierenden Zellen haben Stammzellcharakter und können Nervenzellen bilden.

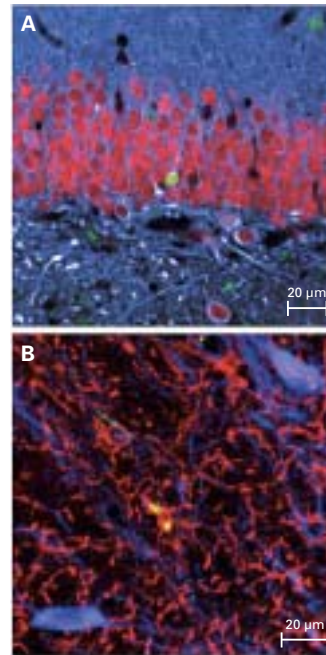


Abb. 5:
A: Aus der Substantia nigra in den Hippokampus transplantierte Stammzellen (grün) differenzieren zu Nervenzellen (rot und blau).
B: Dagegen differenzieren in die Substantia nigra transplantierte Stammzellen (grün) zu glialen Zellen (rot).

Differenzierung zu Nervenzellen zu stimulieren. Tatsächlich bilden in die Substantia nigra transplantierte Stammzellen ausschließlich unreife Astrozyten und Oligodendrozyten. Transplantiert man hingegen Stammzellen aus der Substantia nigra in den Hippokampus, so differenzieren sie zu einem großen Teil zu Nervenzellen (Abb. 5). Diese Transplantationsversuche unterstreichen, dass Stammzellen aus der Substantia nigra neue Nervenzellen bilden können. Auch verdeutlichen sie, dass Umgebungssignale im Hippokampus ausreichen, um die Differenzierung von Stammzellen zu Nervenzellen anzuregen. In Zukunft werden wir uns mit der Frage beschäftigen, ob molekulare Signale wie Wnt-Proteine, die die Neubildung von Nervenzellen im Hippokampus

regulieren, sich dazu nutzen lassen, die Bildung neuer Nervenzellen aus lokalen Stammzellen in der Substantia nigra anzuregen. Wenn das gelingt, könnte davon vor allem die Entwicklung solcher Behandlungsstrategien für Parkinson profitieren, die darauf abzielen, abgestorbene Nervenzellen in der Substantia nigra zu regenerieren.

Die Arbeiten zur Identifizierung regulatorischer Signalwege in der hippokampalen Neurogenese und zu den Eigenschaften von Stammzellen in der erwachsenen Substantia nigra wurden im Labor von Professor Fred H. Gage am Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, USA, begonnen und später in intensiver Zusammenarbeit weitergeführt. Das Projekt wird zum Teil von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

■ Ausgewählte Veröffentlichungen

Lie, D. C., Colamarino, S. A., Desire, L., Song, H., Mira, H., Consiglio, A., Lein, E. S., Jessberger, S., Lansford, H., Dearie, A., Gage, F. H.: Wnt-signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature*; 437: 1370-1375 (2005)

Lie, D. C., Song, H. J., Colamarino, S. A., Ming, G. L., Gage, F. H.: Neurogenesis in the adult brain; new strategies for central nervous system diseases. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44: 399-421 (2004)

Lie, D. C., Dziewczapolski, G., Willhoite, A. R., Kaspar, B.K., Shults, C. W., Gage, F. H.: The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J. Neurosci.* 22: 6639-6649 (2002)