

Institut für Neuroanatomie und Zellbiologie

■ Direktor: Prof. Dr. Claudia Grothe

Tel.: 0511/532-2896 • E-Mail: neuroanatomie@mh-hannover.de • www.mh-hannover.de/neuroanatomie.html

■ Keywords: BIOHYBRID; Nervenimplantate; FGF-2; dopaminerge Neurone; Nervenregeneration; Spinale Muskelatrophie; Amyotrophe Lateralsklerose; Nerveninterponat; Neuroinfektion; Synuclein

Forschungsprofil

Im Mittelpunkt unseres wissenschaftlichen Interesses steht die physiologische Rolle neurotropher Faktoren während der neuronalen Entwicklung und bei De- und Regenerationsvorgängen im Nervensystem sowie die potentielle therapeutische Applikation neurotropher Faktoren bei neurodegenerativen Erkrankungen. Besonderes Interesse liegt dabei auf den zellulären und molekularen Interaktionen beim Morbus Parkinson, der Spinalen Muskelatrophie und der peripheren Nervenregeneration. Die verschiedenen Fragestellungen werden *in vitro* und *in vivo* unter Verwendung entsprechender Mausmutanten und geeigneter Tiermodelle bearbeitet. Erkenntnisse aus diesen Studien bilden die Grundlage für die Entwicklung alternativer therapeutischer Strategien. Die Effizienz der Applikation gentechnisch modifizierter Zellen evaluieren wir in entsprechenden Rattenmodellen des Morbus Parkinson und nach peripherer Nervenläsion im Hinblick auf die morphologische und funktionelle Integration der transplantierten dopaminergen Neurone (Morbus Parkinson) und Schwann-Zellen (periphere Nerven).

Ausgewähltes Forschungsprojekt

Analyse der Pathomechanismen der Spinalen Muskelatrophie (SMA)

Motoneuron-Erkrankungen sind durch degenerative Prozesse im oberen Motoneuron des motorischen Cortex oder in unteren, sekundären Motoneuronen gekennzeichnet. Dadurch kommt es zu einer gestörten Signalweiterleitung innerhalb des motorischen Systems und schließlich zu gestörten Muskelfunktionen, welche tödlich sein können. Bei der Spinalen Muskelatrophie (SMA) handelt es sich um eine monogenetische Motoneuron-Erkrankung, bei dem die Expression des Survival of Motoneuron Proteins (SMN) verringert ist. Die Aufklärung des Pathomechanismus dieser Erkrankung ist eine der zentralen Fragestellungen unserer Arbeit: Über verschiedene Interaktionspartner versuchen wir die Funktion dieses Proteins und insbesondere seine Rolle in Motoneuronen zu analysieren. Mögliche therapeutische Ansätze, welche sich daraus ergeben, testen wir dann in präklinischen Versuchsvorhaben an entsprechenden SMA-Modellmäusen. Die Spinalen Muskelatrophie dient uns dabei aufgrund ihres monogenetischen Charakters als Modellerkrankung für genetisch komplexere Erkrankungen wie z.B. der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS). Diese Motoneuron-Erkrankung tritt sowohl sporadisch als auch familiär auf, und es wurden mehr als einhundert Gene identifiziert, welche mit dieser Erkrankung assoziiert sind.

In vorangegangenen Studien hatten wir eine Rolle des SMN-Proteins bei der Regulation des dynamischen Zellskelettes zeigen können. Das SMN-Protein interagiert direkt mit dem in Motoneuronen exprimierten Aktin-bindenden Protein Profilin2a und greift damit mittelbar in ein regulatorisches Netzwerk ein, welches die Aktin-Dynamik reguliert. Dieses Netzwerk wird seinerseits durch eine Kinase, der Rho-Kinase (ROCK), reguliert. Dabei konnten wir zeigen, dass die SMA-spezifischen Veränderungen dieses Netzwerkes durch eine ROCK-Inhibition teilweise wieder rückgängig gemacht werden konnten. Darüber hinaus hatte sich gezeigt, dass ROCK einen anderen Signalweg, den extracellulär-regulated kinase (ERK) Weg, reguliert und dass dieser Weg in verschiedenen Modellen der SMA überaktiviert ist. Im Rahmen eines Drittmittelprojektes, finanziert durch die europäische SMA-Patientenorganisation SMA Europe, sollte

daher getestet werden, ob sich eine gemeinsame Hemmung beider Signalwege positiv auf die Pathophysiologie von SMA-Modellmäusen auswirkt. Dazu wurden für andere Erkrankungen bereits zugelassene Medikamente verwendet (repurposed drugs). Um Synergien zu ermitteln, wurde die kombinatorische Gabe mit der Gabe der jeweils einzelnen Inhibitoren verglichen. Ein ähnliches Projekt wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Susanne Petri von der Klinik für Neurologie durchgeführt. Gemeinsame Drittmittel der Deutschen Gesellschaft für Muskelkranke hatten diese Kooperation ermöglicht. Im Rahmen dieses Projektes wurden ALS-Modellmäuse mit dieser Inhibitor-Kombination behandelt, welche über ein mutiertes Transgen der Superoxid Dismutase 1 an Aminosäureposition 93 (SODG93A) verfügen.

Neben diesen translationalen Ansätzen im Rahmen präklinischer Versuche, konnten wir die Eigenschaften der veränderten Aktin-Dynamik in der SMA weiter charakterisieren. Dabei stellte sich heraus, dass Aktin in großen Bündeln innerhalb von Motoneuronen aggregiert. Diese sogenannten Aktin-rods konnten wir in verschiedenen SMA-Modellsystemen nachweisen, darunter Zelllinien, Mausmodellen und induzierten pluripotenten Stammzellen von SMA-Patienten. Interessanterweise binden diese Aktin-rods einen bestimmten Rezeptor, welcher für die korrekte Ausbildung synaptischer Strukturen an den Motoneuronen wichtig ist - ein Prozess, welcher in der SMA gestört ist. Darüber hinaus konnten wir die Bildung dieser Aktin-rods durch Manipulation proteolytischer Enzyme wieder rückgängig machen. Dadurch ergibt sich eine therapeutische Option, welche wir zukünftig präklinisch testen möchten.

Neben der Regulation des Aktin-Zytoskelettes konnte vor kurzem eine weitere Funktion des Aktin-bindenden Proteins Profilin gezeigt werden - es ist an der Bildung sogenannter Stressgranula beteiligt. Diese multimeren Proteinkomplexe werden unter zellulären Stressbedingungen gebildet und wirken dabei protektiv. Bei neurodegenerativen Erkrankungen können diese Granula zu irreversiblen und möglicherweise toxischen Proteinaggregaten werden. Um die Bildung von Stressgranula in SMA Zellen zu studieren, haben wir zunächst ein Hochdurchsatz-Verfahren zur automatischen Detektion von granulären Strukturen etabliert. Darüber konnten wir zeigen, dass die Stressgranula-Bildung in SMA-Zellen verändert ist. Interessanterweise gibt es Mutationen im Profilin-1 Gen, welche zu ALS und zu einer veränderten Stressgranula-Dynamik führen. In weitergehenden Versuchen soll daher der Einfluss des SMN-Proteins auf die veränderte, ALS-assoziierte Stressgranula-Dynamik getestet werden.

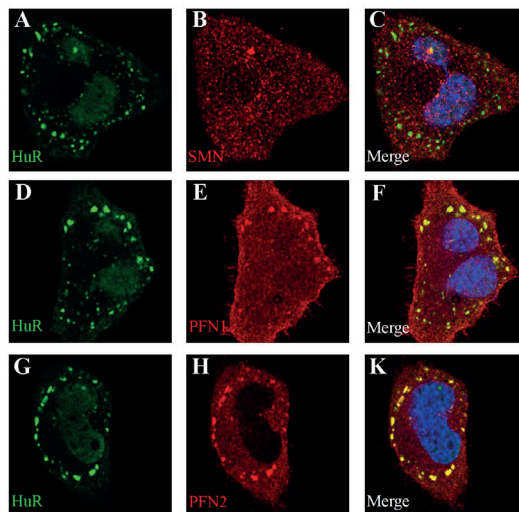


Abb. 1: Profilin 1 und 2 lokalisieren in Stressgranula. Motoneuron-ähnliche Zellen wurden chemisch gestresst, fixiert und dann immunocytochemisch gefärbt. HuR (grün, A, D, G), ein Marker für Stressgranula, zeigt eine deutliche Co-Lokalisation mit Profilin-1 (rot, E) und Profilin-2 (rot, H) während das SMN-Protein (rot, B) partiell co-lokalisiert. (L. Klemke)

- Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Hensel, Niko (Dr. rer. nat.); Förderung: SMA Europe

Weitere Forschungsprojekte (mit Stichtag 01.12.2016)

Pathogenese der Spinalen Muskelatrophie und Entwicklung einer Therapie durch Inhibition der Rho-Kinase

- Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: Philipp & Freunde - SMA Deutschland e.V.

Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand (ZIM): Entwicklung und Produktion einer innovativen Nervenleitschiene zur Unterstützung der Regeneration verletzter Digitalnerven (EPINUR)

- Projektleitung: Haastert-Talini, Kirsten (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Medovent; Förderung: AiF Projekt GmbH ZIM - Kooperationsprojekte -

Role of changes in the actin cytoskeleton as potential therapeutic target in ALS

- Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Petri, Susanne (Prof. Dr.); Förderung: Deutsche Gesellschaft für Muskelkranke e.V. (DGM)

In vitro Untersuchung der Wechselwirkung von Zellen peripherer Nerventumoren mit Chitosan

- Projektleitung: Haastert-Talini, Kirsten (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Dr. Maria Pedro, Betriebsklinikum Günzburg, Universität Ulm; Förderung: Medovent

The ROCK-ERK signalling network in SMA - mediator of neurodegeneration and SMN independent treatment target

- Projektleitung: Hensel, Niko (Dr. rer. nat.); Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: DGM-REsmaNET, (SMA Europe)

Niedersachsen Research Network Neuroinfectiology: Axonal damage after infection - cellular mechanisms and signalling

- Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: N-RENNT 1 und 2

Die Rolle des SMN Proteins bei der Bildung von RNA- und Protein-Akkumulationen bei der neurodegenerativen Erkrankung Amyotrophe Lateralsklerose (ALS)

- Projektleitung: Förthmann, Benjamin (Dr. rer. nat.); Förderung: HiLF, MHH

Funktionelle, molekulare und morphometrische Evaluation im Morbus Parkinson Rattenmodell nach intrastriateller Transplantation neuronaler Progenitorzellen

- Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Kooperationspartner: MHH-Neurochirurgie

Etablierung einer standardisierbaren Methode zur Beurteilung der Zytotoxizität am Beispiel der vergleichenden Ultrastrukturanalyse von Fibroblasten und Neuroblastomzellen nach Kultivierung mit Innenohrimplantatmaterialien. Abschluss Teilprojekt D2 von SFB 599

- Projektleitung: Brandes, Gudrun (Dr. med.); Kooperationspartner: Wissel, Kirsten (Dr. rer. nat.); Lenarz, Thomas (Prof. Dr.), HNO-Klinik/MHHM; Menzel, Henning (Prof. Dr.), Institut für Technische Chemie, TU Braunschweig

Zellbiologische Effekte von Silberionen-freisetzenden Produkten auf Epithel sowie Binde- und Stützgewebe im Mittelohrganmodell der Ratte

- Projektleitung: Brandes, Gudrun (Dr. med.); Kooperationspartner: Reber, Lucas (FWJ), Institut für Zellbiologie im Zentrum Anatomie; Lexow, Franziska (Dr. med. vet.); Lipokatic-Takacs, Esther (Dr. rer. nat.); Lenarz, Thomas (Prof. Dr. med.), HNO-Klinik/MHH

Originalpublikationen

Hadler C, Aliuos P, Brandes G, Warnecke A, Bohlmann J, Dempwolf W, Menzel H, Lenarz T, Reuter G, Wissel K. Polymer Coatings of Cochlear Implant Electrode Surface - An Option for Improving Electrode-Nerve-Interface by Blocking Fibroblast Overgrowth. *PLoS One* 2016;11(7):e0157710

Hensel N, Schön A, Konen T, Lübben V, Förthmann B, Baron O, Grothe C, Leifheit-Nestler M, Claus P, Haffner D. Fibroblast growth factor 23 signaling in hippocampal cells: impact on neuronal morphology and synaptic density. *J Neurochem* 2016;137(5):756-769

Nguyen T M, Schreiner D, Xiao L, Traunmüller L, Bornmann C, Scheffele P. An alternative splicing switch shapes neuexin repertoires in principal neurons versus interneurons in the mouse hippocampus. *Elife* 2016;5:DOI: 10.7554/eLife.22757

Stanslowsky N, Reinhardt P, Glass H, Kalmbach N, Naujock M, Hensel N, Lübben V, Pal A, Venneri A, Lupo F, De Franceschi L, Claus P, Sternecker J, Storch A, Hermann A, Wegner F. Neuronal Dysfunction in iPSC-Derived Medium Spiny Neurons from Chorea-Acanthocytosis Patients Is Reversed by Src Kinase Inhibition and F-Actin Stabilization. *J Neurosci* 2016;36(47):12027-12043

van Neerven S G, Haastert-Talini K, Boecker A, Schriever T, Dabhi C, Claeys K, Deumens R, Brook G A, Weis J, Pallua N, Bozkurt A. Two-component collagen nerve guides support axonal regeneration in the rat peripheral nerve injury model. *J Tissue Eng Regen Med* 2016;DOI: 10.1002/term.2248

Wuttke S, Zimpel A, Bein T, Braig S, Stoiber K, Vollmar A, Müller D, Haastert-Talini K, Schaeske J, Stiesch M, Zahn G, Mohmeyer A, Behrens P, Eickelberg O, Böllukas DA, Meiners S. Validating Metal-Organic Framework Nanoparticles for Their Nanosafety in Diverse Biomedical Applications. *Adv Healthc Mater* 2016;DOI: 10.1002/adhm.201600818

Übersichtsarbeiten

Schreiner D, Savas J N, Herzog E, Brose N, de Wit J. Synapse biology in the 'circuit-age'-paths toward molecular connectomics. *Curr Opin Neurobiol* 2016;42:102-110

Buchbeiträge, Monografien

Wewetzer K, Omar M, Kammeyer P, Brandes G. Wiring of the Olfactory System and the Functional Role of Neurons and Glia during Lifelong Turnover. In: Jezierski T, Ensminger J, Papet L E [Hrsg.]: *Canine Olfaction Science and Law*. Waretown, N.J.: Apple Academic Press Inc, 2016. S. 17-29

Abstracts

2016 wurden 18 Abstracts publiziert.

Promotionen

Duda, Sven (Dr. med.): Tissue Engineering peripherer Nerven : Untersuchung der Regeneration peripherer Nerven durch synthetische Nerventransplantate aus Chitosan und Polycaprolacton.

Master

Baskal, Svetlana (M.Sc. Biochemie): Inhibition der ROCK- und ERK-Signalwege in einem Mausmodell der Spinalen Muskelatrophie (SMA).

Klemke, Luisa (M.Sc. Biochemie): Die Bildung von Stressgranula als gemeinsamer molekularer Mechanismus der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) und Spinalen Muskelatrophie (SMA).

Walter, Lisa Marie (M.Sc. Biochemie): Die Interaktion und Lokalisation des Survival of Motoneuron (SMN) Proteins im C9orf72-Modell der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS)M.

Bachelor

Rehra, Lena (B.Sc. Biologie): Aussagekraft zweier Greiftests für die Einstufung der funktionellen Regeneration nach langstreckiger Läsion und Rekonstruktion des Nervus medianus im Rattenmodell.

Schüning, Tobias (B.Sc. Biochemie): Etablierung eines AAV-Transduktionsmodells für den Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 (FGF23)

Stipendien

Schwarz, Lisa-Marieke (cand. med.): StrucMed-Programm.

Stöbel, Maria (PhD-Student): Reisestipendium GLAXO SMITH KLINE.

Hensel, Niko (Dr. rer. nat.): Reisestipendium Deutsche Muskelstiftung.

Rademacher, Sebastian (PhD-Student): Reisestipendium Initiative SMA.

Wissenschaftspreise

Stöbel, Maria (PhD-Student): Posterpreis für die Präsentation bei den 9th Graduate School Days.

Schreiner, Dietmar (Dr. rer. nat.): Preis der Stiftung Gesellschaft der Freunde der MHH.

Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Grothe, Claudia (Prof. Dr.): Vorsitzende im Kuratorium der Stiftung Sibylle Assmus; gutachterliche Tätigkeiten für die DFG und andere Organisationen der Forschungsförderung; Gutachter für diverse Fachjournale.

Claus, Peter (Prof. Dr.): Gutachter für nationale und internationale Organisationen der Forschungsförderung; gutachterliche Tätigkeiten für diverse Fachjournale; Mitglied in wissenschaftlichen Beiräten von Patientenorganisationen.

Haastert-Talini, Kirsten (Prof. Dr.): Fachgutachterin für verschiedene internationale peer-reviewed Journals; Fachgutachterin für Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro, H2020-FETOPEN-1-2016-2017-RIA; Section Editor Biomed Research International.

Schreiner, Dietmar (Dr. rer. nat.): Gutachter für diverse Fachjournale.

Brandes, Gudrun (Dr. med.): Gutachtertätigkeit für internationale Fachzeitschriften (über Zellbiologie, Anatomie, Elektronenmikroskopie, biologische Wechselwirkungen von Biomaterialien).

ANATOMIE

Lindner, Robert (Dr. rer. nat.): Gutachtertätigkeit für BBA Biomembranes und für Journal of Leukocyte Biology.

Förthmann, Benjamin (Dr. rer. nat.): Gutachter für diverse Fachjournale und internationale Organisationen der Forschungsförderung.

Hensel, Niko (Dr. rer. nat.): Gutachter für diverse Fachjournale und internationale Organisationen der Forschungsförderung.