

Institut für Neuroanatomie

■ **Direktor: Prof. Dr. Claudia Grothe**

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

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 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 Stamm-Zellen (Morbus Parkinson) und Schwann-Zellen (periphere Nerven).

Forschungsprojekt

Regulation von Strukturen des Zellkerns durch den Wachstumsfaktor FGF-2: Bedeutung für die Pathophysiologie der Spinalen Muskelatrophie

Die Spinale Muskelatrophie (SMA) ist eine neurodegenerative Erkrankung der Motoneurone im Vorderhorn des Rückenmarks, die durch eine Deletion des Survival of Motoneuron Gens 1 (Smn1) hervorgerufen wird. Mit einer Inzidenz von 1:6000 ist SMA die häufigste genetische Todesursache bei Kindern. In der schwersten Ausprägung dieser Erkrankung (SMA Typ 1, Werdnig-Hoffmann) sterben die betroffenen Kinder innerhalb ihrer ersten beiden Lebensjahre. Das menschliche Genom enthält mindestens eine Kopie des Smn1-Gens. Dieses Smn2-Gen enthält jedoch eine Punktmutation, welche dazu führt, dass nur eine geringe Menge funktionelles SMN-Protein exprimiert werden kann. In Abhängigkeit

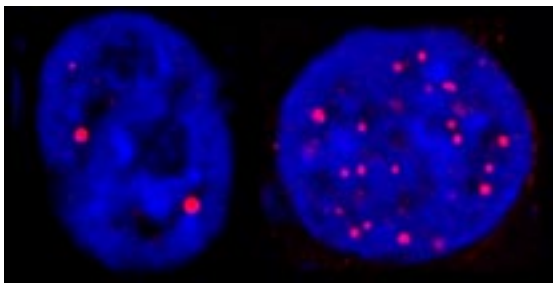


Abb. 1: Cajal-Körperchen im Zellkern. Links, Cajal-Körperchen wurden mit einem Antikörper gegen Coilin im Zellkern von HEK293 Zellen markiert. Diese befinden sich im interchromosomalen Raum. Rechts, Transfektion von HEK293-Zellen mit einer SMN-Mutante führt zur Destabilisierung von Cajal-Körperchen und zur Dislokalisierung von Coilin.

von der Smn2-Expression gibt es schwächere Verlaufsformen der SMA. SMN wird in allen Zelltypen des Körpers exprimiert, jedoch tritt aus bisher unbekanntem Gründen eine spezifische Degeneration der spinalen Motoneurone auf. Eine Therapie der Erkrankung ist bisher nicht verfügbar.

Das SMN Protein hat wahrscheinlich verschiedene Funktionen: Es dient als Plattform zur Bildung von prä-mRNA Spleissing-Komplexen. Dieser Spleissing-Prozess, bei dem aus der prä-mRNA Intron-Sequenzen herausgeschnitten werden, erfolgt im Zellkern. SMN ist selbst nicht direkt am Spleissen beteiligt und ist daher auch nicht in Spleissing-

Kompartimenten des Zellkerns lokalisiert. Der Zellkern selbst selbst ist eine Membran-umschlossene, zelluläre Struktur, die weitere Kompartimente ohne Membranen beinhaltet. Dazu gehören auch eine Reihe verschiedener Kernkörperchen (nuclear bodies) (Abb. 1).

SMN findet sich in zwei dieser Kernkörperchen: den Cajal bodies und den nuclear gems. Während die Cajal bodies biochemisch bereits recht gut charakterisiert sind – sie beteiligen sich an der Modifikation kleiner, katalytischer RNA-Moleküle – ist die Funktion von nuclear gems noch weitgehend unbekannt. Kernkörperchen sind dabei unter mehreren Gesichtspunkten dynamische Strukturen (Abb. 2): Sie bewegen sich recht schnell durch Diffusion durch den Zellkern und können sich in einer nicht-hierarchischen Weise formieren.

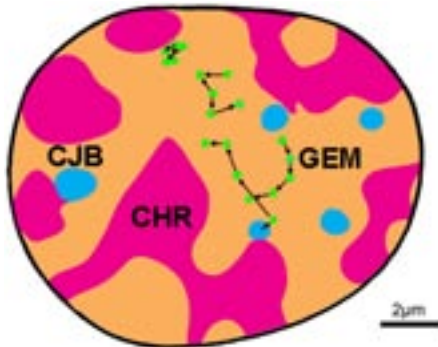


Abb. 2: Cajal-Körperchen und nuclear gems sind dynamische, nukleare Strukturen. Beide Typen von Kernkörperchen enthalten das Survival of Motoneuron Protein. Trajektorien zeigen die Bewegung von nuclear gems im interchromosomalen Raum an. CJB, Cajal-Körperchen; CHR, Chromatin; GEM, nuclear gems.

Mit welchen Proteinen interagiert SMN im Zellkern und in den Kernkörperchen? Eine Beantwortung dieser Frage ermöglicht eine Identifizierung der biochemischen Wege, an denen SMN im Zellkern bzw. den Zellkörperchen beteiligt ist. Unsere Arbeitsgruppe hat den Fibroblastenwachstumsfaktor-2 (FGF-2) als ein interagierendes Protein identifiziert (Claus et al., J. Biol. Chem. 278: 479-85). Überraschenderweise ist dieser Wachstumsfaktor nicht nur ein extrazelluläres Signalmolekül, sondern auch ein Protein, welches im Zellkern vorkommt. FGF-2 interagiert dabei direkt mit dem SMN-Protein. Welche zellulären Konsequenzen hat diese Interaktion. Dieser Frage sind wir nachgegangen, und konnten zeigen, dass FGF-2 die Stabilität und Anzahl von nuclear gems negativ reguliert (Bruns et al. 2009, PNAS 106: 12747-52) (Abb.3).

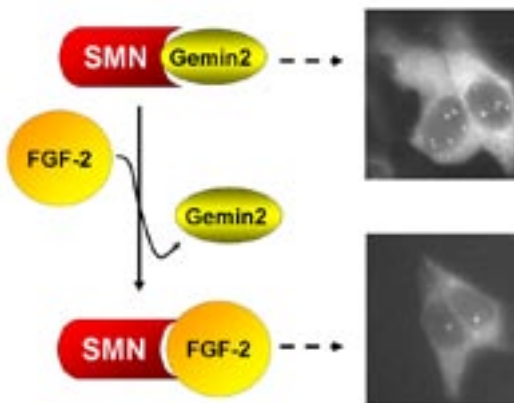


Abb. 3: Der Wachstumsfaktor FGF-2 kompetiert mit Gemin2 um die Bindung an das SMN-Protein. Der SMN/FGF-2 Komplex destabilisiert nuclear gems, einen Subtyp von Kernkörperchen; ihre Anzahl ist dann deutlich reduziert (rechte Seite, Zellkerne von HEK293 Zellen).

In transgenen FGF-2 Mäusen wird der Wachstumsfaktor verstärkt exprimiert. Dies führt in den Motoneuronen zu einer Reduktion der Anzahl der nuclear gems. Interessanterweise kommt es auch bei SMA-Patienten zu einer solchen Verringerung. Auf zellulärer Ebene ließ sich ebenfalls zeigen, dass nuclear gems destabilisiert werden, wenn FGF-2 in diesen Zellen exprimiert wird. Molekular lässt sich zeigen, dass FGF-2 mit einem weiteren Protein (Gemin2),

welches für die Stabilität von nuclear gems wichtig ist, um die Bindung an SMN konkurriert. Damit konnten wir auf verschiedenen Systemebenen erstmals zeigen, dass ein Wachstumsfaktor in die Architektur des Zellkerns regulierend eingreifen kann.

■ Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover, Thyssen-Stiftung, Röchling-Stiftung

Weitere Forschungsprojekte

Etablierung Polysialinsäure-basierter Gerüste als Nervenimplantate – in vitro Evaluierung

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Förderung: DFG-Forschergruppe 548

Etablierung Polysialinsäure-basierter Gerüste als Nervenimplantate – in vivo Evaluierung

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Förderung: DFG-Forschergruppe 548

Molekulare Analyse des FGF-2-Systems während der Entwicklung dopaminerger Neurone

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Ratzka, Andreas (Dr.); Förderung: DFG Normalverfahren

Zellbasierte Therapie im Rattenmodell des Morbus Parkinson – Morphologische und funktionelle Integration gentechnisch modifizierter neuronaler Stammzellen

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Ratzka, Andreas (Dr.); Förderung: EU-Graduiertenförderung durch das Marie-Curie-Programm und MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover

Rekonstruktion großer Defektstrecken in peripheren Nerven mittels Kombination von intraoperativer Elektrostimulation und Schwann-Zell-Ersatztherapie im Sinne des „Tissue Engineering“

■ Projektleitung: Haastert, Kirsten (PD Dr.); Förderung: HiLF

Studie zur Regeneration peripherer Nerven nach Durchtrennung und anschließender chirurgischer End-zu-Seit-Anastomose im Modell der adulten Ratte

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Haastert, Kirsten (PD Dr.); Kooperation: Samii, Madjid (Prof. Dr. Dr. hc mult.); Förderung: Förderverein International Neuroscience Institute Hannover

Morphometrische und funktionelle Untersuchungen an Polysialinsäure-Mausmutanten nach peripherer Nervenläsion

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.), Jungnickel, Julia (Dr.); Kooperation: Gerardy-Schahn, Rita (Prof. Dr.), Weinhold, Birgit (Dr.), Eckhardt, Matthias (PD Dr.); Förderung: DFG-Normalverfahren

Physiologische Rolle des basischen Fibroblastenwachstumsfaktors für die Wiederherstellung sensorischer und motorischer Funktionen nach Verletzung peripherer Nerven

■ Projektleitung: Jungnickel, Julia (Dr.); Grothe, Claudia (Prof. Dr.)

Pathogenese der Spinalen Muskelatrophie, einer neurodegenerativen Motoneuronen-Erkrankung

■ Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover

Bedeutung des neurotrophen Faktors FGF-2 bei der Amyotrophen Lateralsklerose - Untersuchungen an Doppelmausmutanten

■ Projektleitung: Jungnickel, Julia (Dr.); Förderung: Deutsche Gesellschaft für Muskelkranke e.V. (DGM)

Originalpublikationen

Bruns AF, van Bergeijk J, Lorbeer C, Nölle A, Jungnickel J, Grothe C, Claus P. Fibroblast growth factor-2 regulates the stability of nuclear bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(31):12747-12752

Dunham-Ems SM, Lee YW, Stachowiak EK, Pudavar H, Claus P, Prasad PN, Stachowiak MK. Fibroblast growth factor receptor-1 (FGFR1) nuclear dynamics reveal a novel mechanism in transcription control. *Mol Biol Cell* 2009;20(9):2401-2412

Haastert K, Grosheva M, Angelova SK, Guntinas-Lichius O, Skouras E, Michael J, Grothe C, Dunlop SA, Angelov DN. Schwann cells overexpressing FGF-2 alone or combined with manual stimulation do not promote functional recovery after facial nerve injury. *J Biomed Biotechnol* 2009;2009:408794

Haastert K, Seef P, Stein VM, Tipold A, Grothe C. A new cell culture protocol for enrichment and genetic modification of adult canine Schwann cells suitable for peripheral nerve tissue engineering. *Res Vet Sci* 2009;87(1):140-142

Jungnickel J, Haastert K, Grzybek M, Thau N, Lipokatic-Takacs E, Ratzka A, Nölle A, Claus P, Grothe C. Mice lacking basic fibroblast growth factor showed faster sensory recovery. *Exp Neurol* 2009; DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.06.003

Köster-Patzlaff C, Hosseini SM, Reuss B. Loss of connexin36 in rat hippocampus and cerebellar cortex in persistent Borna disease virus infection. *J Chem Neuroanat* 2009;37(2):118-127

Ragancokova D, Jahn K, Kotsiari A, Schlesinger F, Haastert K, Stangel M, Petri S, Krampfl K. Analysis of Neuroprotective Effects of Valproic Acid on Primary Motor Neurons in Monoculture or Co-cultures with Astrocytes or Schwann Cells. *Cell Mol Neurobiol* 2009;29(6-7):1037-1043

Schiff M, Weinhold B, Grothe C, Hildebrandt H. NCAM and polysialyltransferase profiles match dopaminergic marker gene expression but polysialic acid is dispensable for de-

velopment of the midbrain dopamine system. *J Neurochem* 2009;110(5):1661-1673

Schmitte R, Tipold A, Stein VM, Schenk H, Flieshardt C, Grothe C, Haastert K. Genetically modified canine Schwann cells-In vitro and in vivo evaluation of their suitability for peripheral nerve tissue engineering. *J Neurosci Methods* 2010;186(2):202-208

Buchbeiträge, Monografien

Hohenhoff G, Krauss JK, Schwabe K, Haastert K, Nakamura M, Hustedt M. Laser generated scaffolds for regeneration of the auditory and facial nerve. In: International Federation for Medical and Biological Engineering. [Hrsg.]: 4th European conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering 3. Berlin: Springer, 2009. S.2161-2164 (IFMBE proceedings; 22,3)

Abstracts

2009 wurden 14 Abstracts publiziert.

Habilitationen

Kirsten Haastert (PD Dr.): Einsatz der Schwann-Zell-basierenden ex vivo-Genherapie zur Verbesserung der Regeneration peripherer Nerven nach Substanzverlust – In vitro- und in vivo-Studien am Rattenmodell

Promotionen

Andre Dos Santos Nobre (Ph.D.): Genetically modified ventral mesencephalic neuronal progenitor cells – Cellular and molecular characterization in vitro (Ph.D., Zentrum für Systemische Neurowissenschaften ZSN)

Sukhada Chaturvedi (Ph.D.): Transplantation of physiological and genetically modified adult Schwann cells to promote regeneration of peripheral nerves across long gaps (Ph.D., Zentrum für Systemische Neurowissenschaften ZSN)

Peer Seef (Dr. med. vet.): Genetische Modifikation von Schwann-Zellen der Ratte und des Hundes: in-vitro-Charakterisierung und funktionelle und histologische Untersuchung nach Transplantation im Regenerationsmodell des Nervus ischiadicus der Ratte

Christian Hubertus Brämer (Dr. med. vet.): Tierexperimentelle Untersuchungen an Mausmutanten zur Funktion der endogenen Polysialinsäure bei der peripheren Nervenregeneration

Ruth Schmitte (Dr. med. vet.): In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen therapeutischer Konzepte zur Förderung der anatomischen und funktionellen Regeneration über große Defektstrecken im Nervus ischiadicus der adulten Ratte: Transplantation gentechnisch modifizierter Hundeschwann-Zellen-Anwendung der Elektrostimulation des proximalen Nervenstumpfes und der Ex-vivo-Gentherapie

Kristina Haase (Dr. med.): Untersuchungen an Mausmutanten zur physiologischen Rolle des basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktors bei der peripheren Nervenregeneration

Marcin Pawel Grzybek (Dr. med.): Funktionelle und morphologische Analysen an FGF-2 deletierten Mausmutanten während der peripheren Nervenregeneration

Diplome

Nadine Thau (Dipl.-Biol.): Funktion des basischen Fibroblastenwachstumsfaktors (FGF-2) in einem Tiermodell der Amyotrophen Lateralsklerose - Untersuchungen an Doppelmausmutanten

Bianca Heurich (Dipl.-Biochem.): Das Aktin-Cytoskelett bei der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS)

Saskia Gangl (Dipl.-Biochem.): Lokalisation des Survival of Motoneuron (SMN) Proteins in einem Modell der Spinalen Muskelatrophie

Master

Linda Reimers (M. Sc.): Zellbasierte Behandlungsstrategien im Rattenmodell des Morbus Parkinson: Evaluation der motorischen Integration und des psychischen Verhaltens nach intrastriärer Transplantation mesencephaler Progenitorzellen

Stipendien

Ruth Schmitte, Tierarzt: Promotionsstipendium der Akademie für Tiergesundheit (Aft)

Anna Nölle (Dipl.-Biol.): MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover

Ieva Kalve, Arzt: MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover

Andre Nobre, MSc: EU-Graduiertenförderung durch das Marie-Curie-Programm

Wissenschaftspreise

Andreas Ratzka (Dr.): Best Datablitz Presentation Award, Network of European CNS Transplantation and Restoration (NECTAR) für den Vortrag „The role of endogenous FGF-2 during development of the substantia nigra of the mouse“.

Janett Schaper-Rinkel (Dipl.-Biol.): MEDIS-Posterpreis der Anatomischen Gesellschaft auf der 26. Arbeitstagung in Würzburg für die Arbeit: „In vivo effects of exogenous polysialic acid on peripheral nerve regeneration across nerve gaps“.

Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Grothe, Claudia (Prof. Dr.): Mitglied im Kuratorium der Stiftung Sybille Assmus; gutachterliche Tätigkeiten für Forschungsförderung und diverse Fachjournale.

Claus, Peter (Prof. Dr.): Gutachterliche Tätigkeiten für diverse Fachjournale.

Haastert, Kirsten (PD Dr.): Gutachterliche Tätigkeiten für diverse Fachjournale.

Jungnickel, Julia (Dr.): Gutachterliche Tätigkeiten für diverse Fachjournale.