Maus macht mobil

Fieberhaft fahnden Wissenschaftler nach einem Mittel gegen die immer noch unheilbare Alzheimerkrankheit. Ihre wichtigsten Verbündeten in diesem Kampf: Mäuse! Welche Erkenntnisse sie den Forschern bescherten, erklärt **Jürgen Götz** – Molekularbiologe aus Sydney.

VON JÜRGEN GÖTZ

TIERISCHER DURCHBLICK
Der Forschung an Nagern verdanken wir wesentliche Erkenntnisse über die fatalen Abbauprozesse bei der Alzheimerdemenz.

EMILIA STASIAK / FOTOLIA

Tübingen im Jahr 1906. Auf der »37. Tagung Südwestdeutscher Irrenärzte« berichtet ein Neuropathologe von der Psychiatrischen Klinik in München über eine 55-jährige Frau mit massivem Gedächtnisverlust, die schließlich in geistiger Umnachtung starb. Einen Namen für die »eigenartige Erkrankung der Hirnrinde«, welche die Patientin befallen hatte, kannte der Mediziner noch nicht. Und Alois Alzheimer (1864–1915) ahnte auch nicht, dass sich die später nach ihm benannte Demenz zu einem der drängendsten Probleme der medizinischen Forschung zu Beginn des 21. Jahrhunderts entwickeln sollte.

Morbus Alzheimer gilt als häufigste Demenzform – an ihr leiden schätzungsweise 24 Millionen Menschen weltweit. Allein in Deutschland leben bis zu eine Million Alzheimerpatienten, deren Anzahl sich mit zunehmender Alterung der Gesellschaft innerhalb der nächsten Generation verdoppeln dürfte. Diese nackten Zahlen lassen die schlimmen Schicksale, die sich hinter der Diagnose »Alzheimer« verbergen, nur erahnen. Intensiv suchen Mediziner nach Möglichkeiten, den schleichenden Gedächtnisverlust zu stoppen oder gar rückgängig zu machen. Hierfür müssen sie zunächst die Vorgänge im Gehirn der Betroffenen verstehen. Als wichtigste Verbündete im Kampf gegen das Leiden haben sich Versuchstiere bewährt, allen voran Mäuse.

Alois Alzheimer hatte seine Diagnose noch gänzlich ohne Tierexperimente gestellt. Mit Hilfe der erst vier Jahre zuvor von dem deutschen Neuropathologen Max Bielschowsky (1869–1940) entwickelten Versilberungsfärbung waren Alzheimer in Mikroskopschnitten vom Gehirn seiner verstorbenen Patientin ungewöhnliche Veränderungen aufgefallen: Zunächst ein dramatischer Schwund an Hirngewebe. Zudem lagen außerhalb der Nervenzellen zahlreiche Eiweißklumpen, die Alzheimer »senile Plaques« nannte. Und innerhalb der Neurone verliefen seltsame Bündelstrukturen, die an verfilzte Fasern erinnerten. Heute werden sie Neurofibrillen genannt.

Das Geheimnis der rätselhaften Plaques und Faserbündel konnten erst der britische Mediziner Michael Kidd und sein amerikanischer Kollege Robert Terry lüften. Beide identifizierten sie in den 1960er Jahren unabhängig voneinander mit Hilfe des Elektronenmikroskops als Faserproteine. Doch es sollten noch weitere 20 Jahre vergehen, bis klar wurde, welche Eiweißstoffe dahinterstecken: Beim Grundbaustein der extrazellulären Plaques handelt es sich um ein 40 bis 42 Aminosäuren langes Peptid, Aβ oder β-Amyloid genannt, das von bestimmten Enzymen aus dem Amyloid-Vorläuferprotein (*Amyloid Precursor Protein,* APP) herausgeschnitten wird (siehe Kasten S. 56 sowie G&G 3/2003, S. 30 und G&G 7-8/2005, S. 18).

Die Neurofibrillenbündel in den Nervenzellen wiederum bestehen aus einem Protein namens Tau, das vor allem in den langen Nervenfortsätzen vorkommt, den Axonen. In gesunden Zellen übernimmt es eine wichtige Funktion: Es stabilisiert die Mikrotubuli, einen wesentlichen Bestandteil des Zellskeletts. Entlang dieser Mikrotubuli transportiert die Zelle Proteine und Organellen wie beispielsweise die für die Energieversorgung unentbehrlichen Mitochondrien bis in feinste Nervenendungen. So wie die Weltwirtschaft ohne funktionierende Transportsysteme undenkbar wäre, so ist auch die Nervenzelle mit ihren bis zu einem Meter langen Fortsätzen auf effektiven Material- und Nährstoffnachschub angewiesen.

Kollaps und Verklumpung

Im Gehirn von Alzheimerpatienten lagern sich an das Tau besonders viele Phosphatgruppen an und lösen es damit von den Mikrotubuli ab (siehe Kasten S. 56). Die Folgen dieser Phosphorylierung sind fatal: Einerseits kollaborieren die Mikrotubuli und unterbrechen damit den axonalen Transport; andererseits verklumpt das Tau-Protein in den Nervenfortsätzen und im Zellkörper zu den von Alzheimer beschriebenen Fibrillen. Dieser Prozess verläuft schleichend und führt zum fortlaufenden Neuronensterben.

Um die krankhaften Proteinablagerungen nachzuweisen, verfügen Forscher inzwischen über ausgeklügelte Methoden. So gibt es Antikörper, die hochspezifisch an Tau oder Aβ binden. Einen Durchbruch in der Alzheimerforschung stellte 1991 die Entdeckung einer Mutation im menschlichen Erbgut dar, die eine vererbbare Form der Demenz auslöst. Es handelt sich genau um jenes Gen, das für das Amyloid-Vorläuferprotein kodiert. Inzwischen sind davon über 20 Mutationen bekannt. Das legt den Schluss nahe, dass dieses Protein – beziehungsweise sein Abbauprodukt Aβ – tatsächlich die Krankheit verursacht. Andere Mutationen betreffen die Enzyme, die Aβ freisetzen. Über 130 Erbgutveränderungen im Zusammenhang mit der Alzheimerdemenz kennen die Forscher heute – manche von ihnen lösen die Erkrankung bereits bei 30-Jährigen aus.

β-Amyloid (Aβ)

Peptid außerhalb der Nervenzellen, der unlösliche Plaques bildet

Amyloid-Vorläuferprotein (APP)

Eiweißstoff in der Nervenzellmembran, aus dem Aβ enzymatisch herausgeschnitten wird

AUF EINEN BLICK

Tiermodelle in der Alzheimerforschung

1 Morbus Alzheimer ist die häufigste Demenzerkrankung weltweit. Sie führt zu einem dramatischen Neuronensterben, dessen molekulare Grundlagen Forscher mit Hilfe von Versuchstieren aufklären konnten.

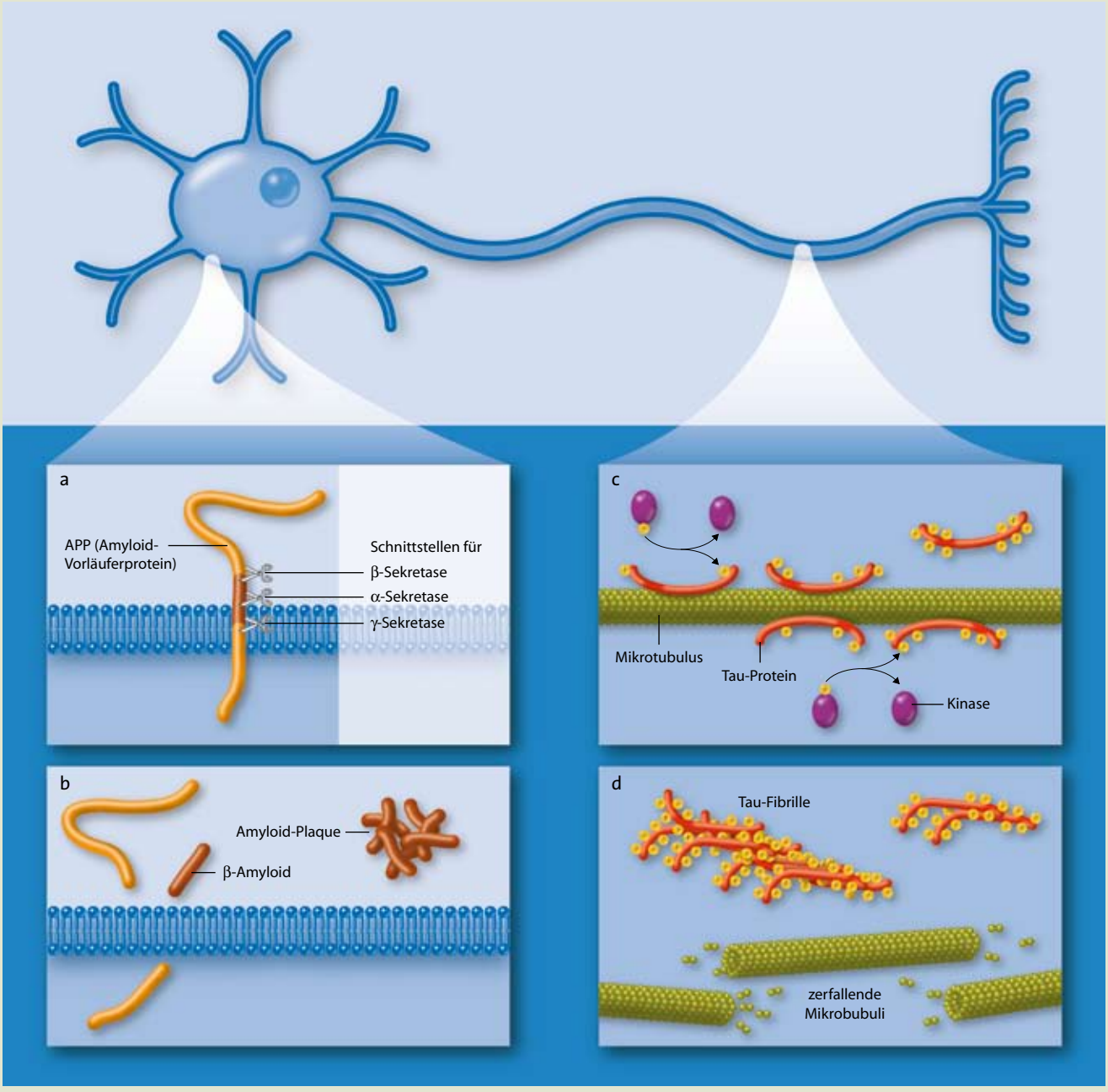
2 Die Hauptrollen spielen zwei Proteine: β-Amyloid (Aβ), das sich außerhalb der Hirnzellen als Plaques ansammelt, sowie Tau, das in den Neuronen verklumpt. Tests an transgenen Mäusen, in deren Erbgut menschliche Gene für diese Proteine eingeschleust wurden, zeigen, wie beide Proteine im Krankheitsverlauf zusammenwirken.

3 Versuchstiere helfen auch, Impfstoffe gegen die Krankheit zu erproben. Eine wirksame Therapie steht jedoch noch aus.

Wurzeln des Übels: fatale Proteinablagerungen

Das Amyloid-Vorläuferprotein (APP) sitzt in der Zellmembran des Neurons und kann an drei verschiedenen Stellen zerschnitten werden (siehe Bild a). Wird es vom Enzym α-Sekretase gespalten, entstehen harmlose Fragmente. Schlagen jedoch β- und γ-Sekretase zu, bildet sich β-Amyloid, das außerhalb der Nervenzellen zu Amyloid-Plaques verklumpt (Bild b).

Das Eiweißmolekül Tau stabilisiert die Mikrotubuli im Axon des Neurons, die wiederum das Skelett sowie das Transportwegenetz der Zelle bilden. Bei Alzheimerpatienten werden die Tau-Proteine durch Kinasen mit Phosphatgruppen überfrachtet (Bild c). Solche Tau-Proteine lösen sich von den Mikrotubuli und verbacken innerhalb der Nervenzellen zu Tau-Fibrillen. Die Mikrotubuli zerfallen – das Zellskelett bricht zusammen (Bild d).



GEHIRN&GEIST / ART FOR SCIENCE

Erst im Jahr 1998 ließ sich eine krankheitsrelevante Mutation im Tau-Gen aufspüren. Das mag erklären, weshalb die meisten Alzheimerforscher sich lange auf Aβ konzentrierten. In der Folge kristallisierten sich zwei Lager heraus: Für die *Bap*tisten spielt das β-*A*myloid-*P*eptid die entscheidende Rolle in der Krankheitsentstehung, die *Tau*isten sehen den schwarzen Peter beim *Tau*.

Doch Experimente mit Labortieren konnten eine Brücke zwischen diesen gegnerischen Lagern schlagen. Die Vorteile von Tierversuchen liegen auf der Hand: Beim Menschen lässt sich das Krankheitsgeschehen nur im Gehirn verstorbener Patienten untersuchen, wobei Fehlinterpretationen durch biochemische Abbauprozesse nach dem Tod nicht auszuschließen sind. Außerdem stammen die Versuchstiere aus genetisch einheitlichen Inzuchten, so dass die Wirkung einzelner Gene gezielt untersucht werden kann.

Nur wie hängen die beiden Schlüsselproteine, die Plaques und die Neurofibrillenbündel, zusammen? Um der Sache auf den Grund zu gehen, arbeiten wir mit transgenen Tieren, denen wir gezielt menschliches Erbmaterial einpflanzen (siehe Kasten unten). So schufen wir 2001 in Zürich den transgenen Mäusestamm *pR5*, der im Übermaß Tau-Fibrillen produziert. In die Gehirne dieser Tiere injizierten wir Aβ-Peptide. Ergebnis: Die Zahl der Tau-Neurofibrillen nahm zu. Damit scheinen die Amyloide die Fibrillenbildung zu verstärken.

Dass auch Tau im Krankheitsverlauf eine entscheidende Rolle spielt, wies 2007 das Team um Erik Roberson und Lennart Mucke vom Gladstone Institute of Neurological Disease in San Francisco nach. Die Forscher kreuzten Aβ-

Tau

Protein im Axon von Nervenzellen, das die Mikrotubuli stabilisiert und beim Transport von Substanzen entlang dem Axon hilft. Im Gehirn von Alzheimerpatienten ist Tau ungewöhnlich stark phosphoryliert. Es bindet dadurch nicht mehr an die Mikrotubuli, die daraufhin kollabieren.

Wertvolle Helfer: transgene Mäuse

Bahnbrechende Erkenntnisse verdanken die Alzheimerforscher transgenen Mäusen. Der Trick: Fremdes Erbmaterial – beispielsweise ein mutiertes menschliches APP-Gen – wird in das Erbgut der Tiere übertragen, um an den Nagern die biochemische Wirkung des Gens zu untersuchen. Dazu injizieren die Wissenschaftler das vervielfältigte menschliche DNA-Stück mit Hilfe von Mikrokapillaren und Mikromanipulatoren unter dem Mikroskop in den Kern einzelliger Mäuseembryonen. Die Zellen können dann in den Eileiter von Ammenmüttern transferiert werden, welche die Embryonen austragen.

Ein Mäuseweibchen kann so bis zu ein Dutzend Junge gebären, von denen ein Teil das menschliche APP-Gen ins Erbgut aufgenommen hat. Ausgehend von einer solchen transgenen Maus lässt sich ein Stamm etablieren, der dann eine weltweite Karriere in den Labors der Universitäten und der Pharmaindustrie antritt. So haben Wissenschaftler über einen APP-transgenen Stamm namens *Tg2576*, der Aβ-Plaques entstehen lässt und bei den Tieren zu einem alzheimerähnlichen Gedächtnisverlust führt, insgesamt bereits mehr als 350 Fachartikel veröffentlicht.

Die vererbbaren Formen der alzheimerschen Erkrankung machen zwar nur etwa ein Prozent aller Fälle beim Menschen aus, doch erst sie haben die Entwicklung transgener Tiermodelle ermöglicht. Solche Versuchstiere haben den Beweis erbracht, dass Mutationen im APP-Gen Aβ-Plaques und Veränderungen im Tau-Gen Neurofibrillenbündel bewirken können. 1995 gelang es unserer Arbeitsgruppe in der Forschungsabteilung von Sandoz in Basel, die erste transgene Maus zu kreieren, bei der das Tau-Protein in den Hirnzellen überphosphoryliert wird. Nach meinem Wechsel an die Universität Zürich etablierte ich 2001 den Stamm *pR5*: Diese Tiere phosphorylieren das Tau-Protein ungleich stärker, sie entwickeln echte Neurofibrillenbündel und leiden unter Gedächtnisverlust.

Mit meinen Kollegen an der University of Sydney analysierte ich 2008 den Mäusestamm *K3*. Er besitzt eine Tau-Mutation, die beim Menschen die so genannte Pick-Krankheit auslöst – ebenfalls eine neurodegenerative Erkrankung, die der Alzheimerdemenz stark ähnelt. Sie wurde erstmals 1892 vom österreichisch-tschechischen Psychiater und Neurologen Arnold Pick (1851–1924) beschrieben.

Wie etliche Pick-Patienten leiden die *K3*-Mäuse unter Muskelstarre, Zittern und Bewegungsarmut. Es zeigte sich, dass diese Symptome auf einen gestörten Transport innerhalb der Nervenzellen beruhen. Gemäß der von vielen Forschern favorisierten Transporthypothese löst ein verändertes Tau-Protein das Leiden aus. *(J. G.)*

JUNGES FORSCHUNGSOBJEKT
Mäuseembryonen (hier im Achtzellstadium) lassen sich genetisch manipulieren.

MIT FRDL. GEN. VON MARKUS MONTAG, UNIVERSITÄT BONN

Mikrotubuli
dünne Röhrenstrukturen in Zellen, die einen Teil des Zellskeletts bilden

Zellskelett
Proteinfasern, die Körperzellen Struktur verleihen. Hierzu gehören die Mikrotubuli, die Intermediärfilamente und die Aktinfilamente.

transgene Mäuse mit einem zweiten Mäusestamm, der überhaupt kein Tau mehr bilden konnte. Die hieraus hervorgehenden Tiere lebten nicht nur viel länger als die Aβ-transgenen Eltern, sondern zeigten auch weniger epileptische Anfälle, die sich typischerweise leicht bei Artgenossen auslösen lassen, die viel Aβ-Plaques produzieren. Dies erlaubt zwei Schlussfolgerungen: Einerseits scheinen sowohl verändertes Tau als auch Aβ krankheitsauslösend zu sein – die Proteine wirken also gemeinsam auf den Krankheitsverlauf. Zweitens könnte bereits eine bloße Reduktion der Tau-Protein-Mengen therapeutisch wirken.

Stadien des Verfalls

Die Forschung an Tieren hat viele biochemische Vorgänge der Alzheimerdemenz erhellt; sie stößt jedoch an Grenzen, wenn es um den Krankheitsverlauf im gesamten Gehirn geht. Denn die Plaques und Neurofibrillenbündel bilden sich keineswegs wahllos im Denkorgan – vielmehr folgt ihre Produktion einem bestimmten Schema. So tauchen die Neurofibrillen zunächst in der so genannten transentorhinalen Rinde auf, einem Hirnareal in unmittelbarer Nachbarschaft zum Hippocampus, der wiederum eine wesentliche Rolle beim Gedächtnis spielt. Nach dem Hippocampus und einigen weiteren Hirngebieten ist am Ende das Kleinhirn betroffen. Diese typische Stadienabfolge lässt sich bei Versuchstieren bislang nicht beobachten.

Die Tiermodelle haben noch ein weiteres Manko: Anders als im menschlichen Gehirn kommt es bei den meisten Alzheimertieren zu keinem massiven Zelltod. Erst 2005 gelang es dem Team um Karen Hsiao Ashe von der University of Minnesota in Minneapolis, diesen entscheidenden Aspekt der Alzheimerpathologie zu reproduzieren: Ihre *rTg(tau$_{P301L}$)4510*-Mäuse zeigten einen dramatischen Zellverlust. Im Alter von achteinhalb Monaten blieb von den Neuronen in der so genannten CA1-Region des Hippocampus weniger als jedes vierte übrig. Das gesamte Gehirn der Tiere war massiv ge-

Weitere Tiermodelle: Fliegen und Würmer

JAN POJABINSKI / FOTOLIA

Alzheimerforscher arbeiten nicht nur mit Mäusen. So hat sich auch die Taufliege *Drosophila melanogaster* (Bild oben) – die bereits auf eine 100-jährige Karriere als Forschungsobjekt zurückblicken kann – zum Modellorganismus für Demenzerkrankungen gemausert. Die Forscher verfügen inzwischen über mehrere Stämme mit genetisch verändertem Tau-Protein oder Aβ-Peptid. An den schnell, kostengünstig und in großen Mengen zu züchtenden Fliegen lassen sich biochemische Prozesse verhältnismäßig leicht beobachten. Vor allem neu entwickelte Wirkstoffe, die als Alzheimermedikamente taugen könnten, testen Forscher gern an den Insekten.

MIT FRDL. GEN. VON RALF J. SOMMER UND JÜRGEN BERGER, MPI FÜR ENTWICKLUNGSBIOLOGIE

Zu den am besten untersuchten Tierarten überhaupt gehört der Nematode *Caenorhabditis elegans* (elektronenmikroskopische Aufnahme), der ebenfalls in der Alzheimerforschung eingesetzt wird. Das nur ein Millimeter lange Würmchen besteht aus wenigen Zellen und ist ebenfalls leicht im Labor zu züchten. Wegen seines durchsichtigen Körpers lassen sich Veränderungen seines Nervensystems durch Tau-Mutationen unter dem Mikroskop beobachten.

Offene Fragen: der Teufel im Detail

Trotz aller Fortschritte bleiben viele Vorgänge bei der Alzheimerkrankheit rätselhaft. Die Wissenschaftler verstehen beispielsweise immer noch nicht richtig, wie Aβ und phosphoryliertes Tau das Absterben der Hirnzellen verursachen. Unklar ist ebenfalls, welche Form von Aβ toxisch wirkt oder welche Aminosäuren im Tau-Protein phosphoryliert sein müssen, damit es sich von den Mikrotubuli ablöst und verklumpt.

Auch über die zellulären Prozesse, welche die Krankheit entstehen lassen und zu den ersten Symptomen führen, müssen die Forscher noch mehr herausfinden. Weiterhelfen konnte hier der bewährte Mäusestamm *Tg2576*: Im Jahr 2006 isolierte Karen Ashes Arbeitsgruppe an der University of Minnesota in Minneapolis bei diesen Tieren eine besondere Form von Aβ, die sie nach der Molekularmasse des Proteins von 56 Kilodalton Aβ*56 nannte. Wie sich zeigte, scheint diese Form mit dem Gedächtnisverlust der Mäuse zusammenzuhängen. Mehr noch: Injizierten die Forscher Aβ*56 in die Gehirne junger Ratten, dann war das Kurzzeitgedächtnis dieser an sich gesunden Tiere blockiert. Das letzte Wort ist hier allerdings noch nicht gesprochen, da es schwierig ist, Aβ*56 in reiner Form zu gewinnen.

schrumpft. Dieses Zellsterben konnten die Forscher unterbinden, indem sie das eingebaute Tau-Gen wieder abschalteten.

Spannend wird der Einsatz von Versuchstieren bei der Entwicklung von Impfstoffen gegen Alzheimerdemenz. Dieser Weg erscheint zunächst schwierig, da das Gehirn vom Immunsystem des Körpers abgeschottet ist. Doch 1999 impften Dale Schenk und seine Kollegen von der Firma Elan Pharmaceuticals in South San Francisco Mäuse des Stamms *PDAPP*, die menschliches APP im Übermaß produzieren, einerseits mit Aβ, andererseits mit einem Antikörper gegen Aβ. Beide Varianten, die aktive wie auch die passive Immunisierung, verhinderten die Bildung von Plaques und konnten sogar bestehende auflösen.

Grüner Tee als Gedächtnisstütze

Mit viel Enthusiasmus begann daraufhin eine Impfkampagne mit 360 Alzheimerpatienten, die allerdings wegen vereinzelter Entzündungen im Gehirn wieder abgebrochen werden musste. Eine Studie der Arbeitsgruppe um Roger Nitsch von der Universität Zürich mit einer kleinen Anzahl von Patienten deutet jedoch darauf hin, dass der Impfansatz eine Zukunft hat. Gegenwärtig laufen Studien mit verkürztem Aβ-Peptid und passiver Immunisierung mit Antikörpern. Viel versprechend könnte auch eine Impfung gegen Tau sein, die 2007 Einar Sigurdsson und seine Kollegen von der New York University erfolgreich bei Mäusen durchführten.

Daneben versuchen Forscher die Demenz über die Ernährung zu bekämpfen. Tatsächlich gelang es 2005 den Arbeitsgruppen um Jun Tan von der University of South Florida und Gregory Cole vom Veterans Affairs Greater Los Angeles Healthcare System, die Anzahl von Aβ-Plaques in *Tg2576*-Mäusen zu reduzieren – durch Gabe von Grünteeextrakten beziehungsweise ungesättigten Fettsäuren. Interessanterweise lässt sich die Plaquebildung bei Mäusen auch durch verringerte Nahrungszufuhr unterbinden, wie 2004 die Forscher um Todd Morgan von der University of Southern California in Los Angeles herausfanden.

Dank der transgenen Alzheimermäuse wissen wir inzwischen, dass viele der betroffenen Gene und Proteine bei zahlreichen Zellprozessen eine Rolle spielen: Sie beeinflussen die mitochondriale Atmungskette, mit der die Zellen ihre Energie gewinnen, sie sorgen für den Abbau falsch gefalteter Proteine, sie lösen Entzündungsreaktionen aus, und sie ermöglichen Lernen und Gedächtnis. Ausgehend von den Tiermodellen konnten diese Funktionen auch im menschlichen Gehirn nachgewiesen werden. Dies lässt auf mögliche Therapien hoffen. So könnten die entsprechenden Gene und Proteine medikamentös gezielt beeinflusst werden; mit Antioxidanzien und Entzündungshemmern sollten sich zumindest einige der zerstörerischen Prozesse im Gehirn stoppen lassen.

Eine erfolgreiche Therapie für Alzheimerdemenz steht noch immer aus. Da sich das Leiden meist erst im hohen Alter bemerkbar macht, wäre jedoch schon viel gewonnen, wenn – nicht zuletzt auch mit Hilfe von Versuchstieren – der Krankheitsbeginn um fünf oder zehn Jahre hinausgeschoben werden könnte. ~

***Jürgen Götz** ist promovierter Biochemiker und seit 2005 Professor für Molekularbiologie an der University of Sydney.*

Phosphorylierung

Anknüpfen von Phosphatgruppen an organische Moleküle wie beispielsweise Proteine. Bindungseigenschaften und biochemische Aktivitäten der Moleküle können sich dadurch dramatisch verändern.

Transgene Tiere

Versuchstiere, in deren Erbgut zusätzlich artfremde Gene eingeschleust wurden

QUELLE

Götz, J., Ittner, L. M.: Animal Models of Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. In: Nature Reviews Neuroscience 9(7), S. 532–544, 2008.

Weitere Quellen finden Sie im Internet unter: www.gehirn-und-geist.de/artikel/990187