



- Van der Horst, D.J. (2003): Insect adipokinetic hormones: release and integration of flight energy metabolism. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 136: 217-226.
- Wicher, D., Agricola, H.J., Schönherr, R., Heinemann, S.H. und Derst, C. (2006a): TRP channels are inhibited by cAMP and contribute to pacemaking in neurosecretory insect neurons. *J Biol Chem* 281: 3227-3236.
- Wicher, D., Agricola, H.J., Söhler, S., Gundel, M., Heinemann, S.H., Wollweber, L., Stengl, M. und Derst, C. (2006b): Differential Receptor Activation by Cockroach Adipokinetic Hormones Produces Differential Effects on Ion Currents, Neuronal Activity and Locomotion. *J Neurophysiol* 95: 2314-2325.
- Wicher, D., Berlau, J., Walther, C. und Borst, A. (2006c): Peptidergic counter-regulation of Ca²⁺- and Na⁺-dependent K⁺ currents modulates the shape of action potentials in neurosecretory insect neurons. *J Neurophysiol* 95: 311-322.
- Wicher, D., Messutat, S., Lavielle, C. und Lapiéd, B. (2004): A new regulation of non-capacitative calcium entry in insect pacemaker neurosecretory neurons. Involvement of arachidonic acid, NO-guanylyl cyclase/cGMP, and cAMP. *J Biol Chem* 279: 50410-50419, 2004.
- Wicher, D., Walther, C. und Penzlin, H. (1994): Neurohormone D induces ionic current changes in cockroach central neurones. *J Comp Physiol [A]* 174: 507-515.

Kurzbiographie

Dieter Wicher: Physikstudium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena (1980-1985); Institut für Neurobiologie und Hirnforschung der Akademie der Wissenschaften, Magdeburg (1985-1989); Promotion (1989); Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig, Arbeitsstelle „Neurohormonale Wirkungsmechanismen“ (1989-2005), Habilitation in Zellbiologie (2001). Gegenwärtig Leiter der AG Neurophysiologie in der Abteilung Evolutionäre Neuroethologie am Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie in Jena.

Abkürzungen

AKH:	Adipokinetisches Hormon
CC:	Corpora Cardiac
DUM-Neuron:	Dorsales Unpaares Medianes Neuron
TRP:	Transientes Rezeptor-Potential

Korrespondenzadresse

PD Dr. Dieter Wicher
 Max-Planck-Institut für
 Chemische Ökologie
 Hans-Knöll-Straße 8
 D-07745 Jena
 Tel.: +49 (0)3641 571415
 Fax: +49 (0)3641 571402
 e-mail: dwicher@ice.mpg.de

Neuroendokrine Kontrolle des Energiestoffwechsels

Eva Rother, Bengt F. Belgardt und Jens C. Brüning

Zusammenfassung

Das Gehirn reguliert das Energiegleichgewicht des Körpers, indem es Signale aus der Körperperipherie integriert und verarbeitet. Periphere Signale werden von Pankreas, Fettgewebe und dem Verdauungstrakt ausgesandt und beeinflussen durch ihre Wirkung im Gehirn die Nahrungsaufnahme bzw. Energieabgabe des Organismus.

In den letzten Jahren wuchsen die Erkenntnisse über den Einfluss zentraler Netzwerke auf den Energiehaushalt rapide. Zahlreiche Peptide konnten charakterisiert werden, deren Funktion die Übermittlung des Energiestatus an das Gehirn zu sein scheint. Ebenso konnten Fortschritte bei der Identifizierung der an dieser Übermittlung beteiligten Hirnregionen, Neuronenpopulationen sowie der Neurotransmitter gemacht werden, die an der Signalverarbeitung mitwirken. Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang das Fettgewebshormon Leptin sowie das von den Betazellen des Pankreas produzierte Insulin. Beide Hormone werden in Abhängigkeit vom Energiestatus des Körpers in die Blutbahn abgegeben und beeinflussen im Gehirn die Regulation der Energieaufnahme und – abgabe. Ein besseres Verständnis dieser Regelkreise ist nötig, um die Pathogenese der in Ausmaß und Häufigkeit zunehmenden Fettleibigkeit besser zu verstehen.

Abstract

Neuroendocrine regulation of energy homeostasis.

The brain regulates energy balance in response to peripheral signals from pancreas, adipose tissue and the intestinal tract. These signals are released into the blood stream and modulate food intake and energy expenditure by influencing central circuits. Our knowledge of the central pathways controlling energy homeostasis has increased dramatically over the last decade. Numerous peptides that report the body's nutritional status to the brain have been identified. There is a growing understanding of the brain regions, neuronal populations and neurotransmitters that participate in the integration of nutritional signals. The adipocyte hormone leptin and the pancreatic hormone insulin are two major peripheral regulators of energy homeostasis. Both hormones circulate in proportion to the body's energy stores and influence central circuits. A fuller understanding of the central mechanisms regulating food intake and energy expenditure is essential for the rational development of drugs that are able to reverse the acceleration of the current obesity epidemic.

Key words: energy homeostasis; hypothalamus; insulin; leptin

Einleitung

Die Zusammensetzung und Menge der aufgenommenen Nährstoffe variiert von Mahlzeit zu Mahlzeit und von Tag zu Tag. Emotionen, soziale Faktoren, Tageszeit, Bequemlichkeit sowie Kosten sind einige der äußeren Faktoren, die die Größe und Zusammensetzung unserer Mahlzeiten kurzfristig beeinflussen. Somit ist es nicht verwunderlich, dass die täglich zugeführte Energiemenge große Unterschiede aufweist und im Individuum nur sehr schlecht mit der täglichen Energieabgabe korreliert. Beobachtet man jedoch einen größeren Zeitraum

von mehreren Mahlzeiten und Tagen, dann ist es erstaunlich, wie präzise Energieaufnahme und –abgabe im Gleichgewicht miteinander stehen. Dieses Phänomen wird Energie-Homöostase genannt und beschreibt einen aktiven, regulatorischen Prozess, der für stabile Energie-Depots in Form von Körperfett sorgt, jedoch gleichzeitig eine übermäßige Nahrungszufuhr verhindert.

Untersuchungen der letzten Jahre haben einzelne Signalmoleküle identifiziert, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen und für eine normale Energie-Homöostase unentbehrlich sind. Die Methoden der molekularen Genetik im Mausmodell sind für diese Erkenntnisse

von enormer Bedeutung. Beispielsweise wurden die verantwortlichen Gene für mehrere menschliche monogenetische Erkrankungen, die mit massiver Fettleibigkeit einhergehen, erst gefunden, nachdem man die dazu homologen Mutationen zunächst in der Maus identifiziert hatte.

Aufgrund des enormen Einflusses, den Fettleibigkeit und damit assoziierte Erkrankungen auf unsere Gesundheit und damit auch auf die Kosten unseres Gesundheitssystems haben, ist ein verbessertes Verständnis der Regulation von Nahrungsaufnahme und Energieabgabe von höchster Bedeutung.

Der Hypothalamus als regulatorisches Zentrum der Energie-Homöostase

Zerebrale Läsions- und Stimulations-Untersuchungen haben in den letzten 60 Jahren den Hypothalamus als primären Ort der Regulation der Energie-Homöostase identifiziert. In frühen Experimenten wurden verschiedenen Kerngebieten bestimmte Funktionen hinsichtlich dieser Regulation zugeschrieben. So konnte der Nucleus ventromedialis des Hypothalamus (VMN) bereits früh als „Sättigungs-Zentrum“ identifiziert werden, während der Laterale Hypothalamus (LH) als sogenanntes „Hunger-Zentrum“ gilt (Abbildung 1). Diese Zuordnungen reflektieren die Tatsache, dass elektrische Stimulation des VMN die Nahrungsaufnahme unterdrückt, während beidseitige stereotaktische Läsionen im Bereich des VMN übermäßige Nahrungsaufnahme und Fettleibigkeit induzierten. Im Gegensatz dazu führt Stimulation bzw. Verletzung des LH zu den entgegengesetzten Effekten.

In den letzten Jahren wandelte sich die Annahme, dass spezifische „Zentren“ Kerngebiete des Hypothalamus als solche die Energie-Homöostase regulieren, dahingehend, dass man nun dazu tendiert, stattdessen bestimmte Neuronenpopulationen bzw. -netzwerke für die Kontrolle von Nahrungsaufnahme und Energieabgabe verantwortlich zu machen. Man geht von komplexen Interaktionen zwischen Neuronen unterschiedlicher Populationen und Lokalisationen aus, die jeweils in der Lage sind, Nährstoff assoziierte sowie hormonelle Signale zu integrieren (Woods et al. 1998). Diese Hypothese stützt sich auf zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre, die zeigen konnten, dass bestimmte hypothalamische Neurone Hormonrezeptoren - beispielsweise für Insulin oder Leptin – auf ihrer Oberfläche tragen. Diese Hormone sind somit in der Lage, die Funktion und Aktivität solcher Neurone durch Aktivierung spezifischer Signalkaskaden zu beeinflussen.

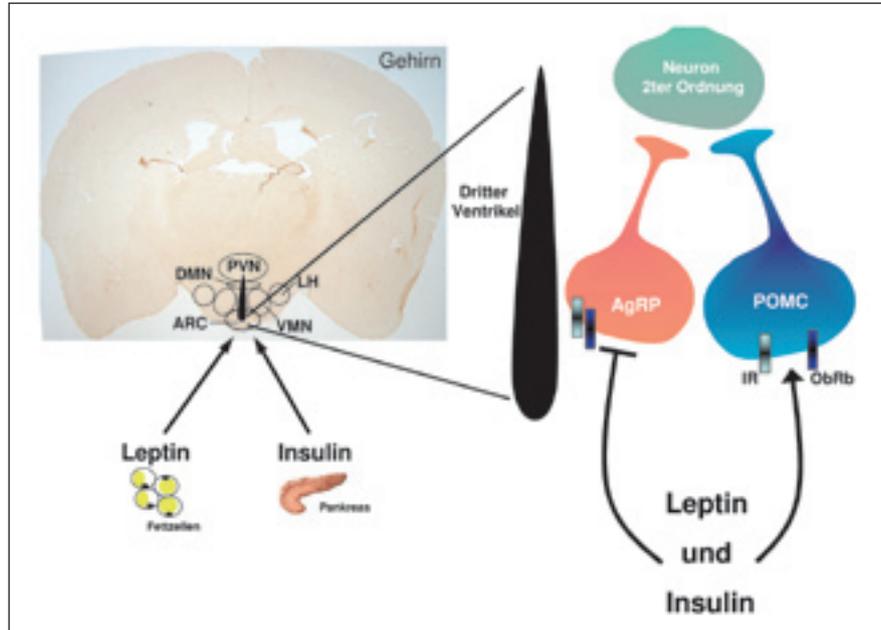


Abb 1.: Insulin und Leptin vermitteln ihre Wirkung durch Modulation von Neuronen in den verschiedenen Kerngebieten des Hypothalamus. Von besonderer Bedeutung sind dabei zwei bestimmte Neuronenpopulationen, die Proopiomelanocortin- (POMC-) Neurone und die Agouti-Related-Peptide- (AgRP-) Neurone, die am Boden des 3. Ventrikels im Nucleus arcuatus (ARC) des Hypothalamus lokalisiert sind.

Zwei besonders gut charakterisierte Neuronen-Typen werden im Hypothalamus ausschließlich im Bereich des Nucleus arcuatus (ARC) gefunden (Abbildung 1). Sie sind benannt nach den Neuropeptiden, die sie exprimieren. Hierbei handelt es sich einerseits um die sogenannten AgRP/NPY-Neuronen. Sie koexprimieren die Hunger vermittelnden (orexigenen) Neuropeptide Agouti-Related Peptide (AgRP) und Neuropeptide Y (NPY). In direkter Nachbarschaft dieser Neurone findet man eine zweite Population, die sogenannten POMC/CART-Neurone, die ihrerseits die Sättigung vermittelnden (anorexigenen) Peptide Proopiomelanocortin (POMC) und Cocaine- und Amphetamine-Regulated Transcript (CART) exprimieren. Diese beiden Neuronenpopulationen produzieren und sezernieren also Effektor-Peptide, die in entgegengesetzter Weise wirken.

Zahlreiche Experimente belegen die Funktion dieser beiden Neuronen-Typen. Die Injektion von AgRP oder NPY in das zerebrale Ventrikelsystem von Nagern führt zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme und einer reduzierten Energieabgabe des Organismus. In Tieren, die mehrere Stunden ohne Nahrung auskommen mussten, findet man eine erhöhte Expression von den Hunger vermittelnden Peptiden AgRP und NPY. Zerstört man ganz gezielt AgRP/NPY-Neurone in erwachsenen Mäusen, führt dies zu einem akuten Appetitverlust und massiver

Gewichtsreduktion. Im Gegensatz dazu führt die selektive Zerstörung von POMC/CART-Neuronen in postpubertären Mäusen zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme und voranschreitender Fettleibigkeit (Gropp et al. 2005). Diese Neurone und ihre Effektor-Proteine regulieren wie im Tiermodell auch beim Menschen die Nahrungsaufnahme. So weisen zum Beispiel Patienten mit Mutationen im POMC-Gen eine sehr früh auftretende extreme Fettleibigkeit auf.

Um einen Einblick in das komplexe Zusammenspiel der diversen Neuronenpopulationen zu geben, seien weitere hypothalamische Kerngebiete wie beispielsweise der Nucleus paraventricularis (PVN), die Zona incerta (ZI), die Area perifornica (PFA) und der laterale Hypothalamus (LH) erwähnt (Abbildung 1). Hierbei handelt es sich um Projektionsgebiete sowohl von AgRP/NPY- als auch von POMC/CART-Neuronen. Das bedeutet, dass Axone der POMC/CART-Neuronen bzw. der AgRP/NPY-Neuronen dorthin münden und Kontakt mit Neuronen sogenannter 2. Ordnung aufnehmen. Mithilfe der dort angesiedelten Neuronen 2. Ordnung werden orexigene wie anorexigene Effekte weitervermittelt. Während man im PVN überwiegend Neurone findet, die weitere anorexigene Substanzen wie Corticotropin Releasing Hormone (CRH) oder Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) produzieren und Rezeptoren für das POMC-Spaltprodukt



α -MSH besitzen, befinden sich im Bereich der PFA und des LH Neurone 2. Ordnung, die beispielsweise das Hunger vermittelnde Peptid Melanin Concentrating Hormone (MCH) exprimieren. Neurone im PVN, PFA und LH projizieren ihrerseits wieder in den Nucleus arcuatus, was das Ausmaß der Komplexität dieses Netzwerkes eindrucksvoll belegt.

Trotz der entgegengesetzten Funktion der AgRP/NPY-Neurone einerseits und der POMC/CART-Neurone andererseits, ist diesen beiden Arten von Neuronen jedoch gemeinsam, dass sie Rezeptoren für Insulin und Leptin auf ihrer Oberfläche tragen. Diese beiden Hormone gehören zu den bislang am besten untersuchten Botenstoffen der Energie-Homöostase.

Periphere Botenstoffe der Energie-Homöostase

Die Hypothese, dass humorale Signale proportional zum Füllungsgrad der körpereigenen Energiereserven ausgeschüttet werden, um dem Gehirn Rückmeldung über den Energiestatus des Organismus zu geben, ist bereits mehr als 50 Jahre alt.

Insulin und Leptin entsprechen den Anforderungen an solche Botenstoffe: beide werden proportional zum Körperfettgehalt ins Blut abgegeben und passieren die Blut-Hirn-Schranke in Abhängigkeit von ihrer Plasmakonzentration. Rezeptoren für beide Hormone werden im Gehirn ausgeprägt, und pharmakologische Applikation beider Substanzen in das Gehirn von Nagern führt zu einer reduzierten Nahrungsaufnahme und bewirkt Gewichtsverlust (Woods et al. 1998).

Insulin. Die Ausschüttung von Insulin aus den β -Zellen des Pankreas erfolgt vornehmlich als Antwort auf einen Anstieg der Plasma-Glukose-Konzentration nach der Nahrungsaufnahme. Insulin vermittelt in der Folge durch Bindung an seinen spezifischen Rezeptor (Insulin-Rezeptor (IR)) die Glukoseaufnahme im Fettgewebe und in der Muskulatur und hemmt die Glukoneogenese in der Leber.

Die Plasma-Insulin-Konzentration hängt kurzfristig also maßgeblich von der Plasma-Glukose-Konzentration ab, langfristig spielt für sie jedoch auch die periphere Insulin-Sensitivität eine große Rolle. Eine Abnahme der peripheren Insulin-Sensitivi-

tät findet man in charakteristischer Weise beim weitverbreiteten Krankheitsbild des Diabetes mellitus Typ 2.

Der Diabetes mellitus Typ 2 ist die häufigste endokrinologische Erkrankung und betrifft derzeit ca. 5% der Bevölkerung westlicher Populationen mit stetig steigender Inzidenz. Neben den direkten Folgen der erhöhten Blut-Glukose-Konzentration repräsentiert der Diabetes mellitus einen entscheidenden Risikofaktor für die Entstehung kardiovaskulärer Komplikationen, weltweit die häufigste Todesursache überhaupt. Pathophysiologisch liegt diesem Krankheitsbild eine genetisch determinierte und durch Umweltfaktoren modifizierte verminderte Insulin-Sensitivität zugrunde, welche wiederum im Zusammenhang mit sowohl der Gesamt-Körperfett-Masse als auch dem Körperfett-Verteilungsmuster steht. Viszeralem Fett kommt bei der Entstehung der peripheren Insulinresistenz eine Schlüsselrolle zu. Die weltweit steigende Inzidenz des Typ 2 Diabetes wird hauptsächlich auf die drastisch zunehmende Häufigkeit schwerer Fettleibigkeit (Adipositas) zurückgeführt.

Neben den klassischen Insulin-Zielgeweben (Skelettmuskulatur, Fettgewebe und Leber) werden Insulinrezeptoren in einer Vielzahl anderer Organe wie beispielsweise der pankreatischen β -Zelle, der glatten Gefäßmuskulatur, den Lymphozyten, aber auch dem Gehirn ausgeprägt (Plum et al. 2005). In den letzten Jahren ist die Bedeutung von Insulin als zentral wirksames homöostatisches Signal mehr und mehr in den Mittelpunkt getreten. In das zerebrale Ventrikelsystem appliziertes Insulin führt bei Nagern und Primaten zu einer dosisabhängigen Hemmung der Nahrungsaufnahme und einem deutlichen Gewichtsverlust. Verabreicht man auf gleichem Wege jedoch beispielsweise Insulin-Antikörper, kommt es in reziproker Weise zu einem Anstieg der Nahrungsaufnahme. Zudem fand man in Mäusen, in denen Neuronen spezifisch der Insulin-Rezeptor ausgeschaltet wurde, einen fettleibigen Phänotyp begleitet von erhöhten Plasma-Insulin-Konzentrationen und gestörten Blutfettwerten (Bruning et al. 2000).

Diese Versuche deuten auf einen negativen Rückkopplungsmechanismus in der Regulation der Energie-Homöostase hin, in dem der Mahlzeiten bedingte Anstieg der Insulinkonzentration über Insulinrezeptoren im Gehirn zu einer Hemmung der Nahrungsaufnahme führt und somit das Gleichgewicht des Energiehaushaltes reguliert. Interessanterweise mehren sich die Anzeichen, dass – wie in der Periphe-

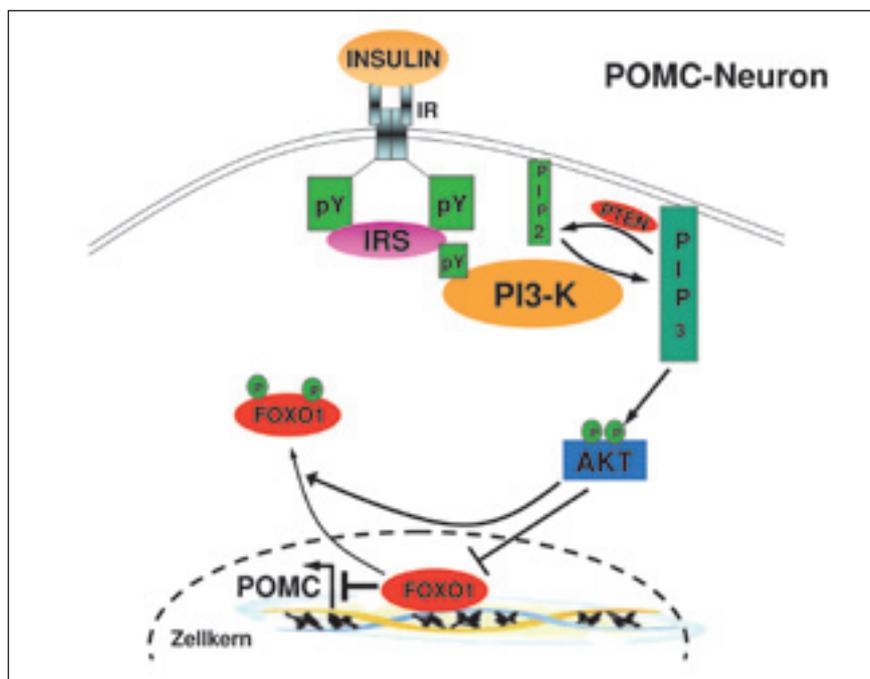


Abb 2.: Insulin reguliert die Transkription von Zielgenen in POMC-Neuronen durch Aktivierung der Insulin-Rezeptor-Substrat (IRS)-Proteine. Dadurch wird die Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase (PI3K) aktiviert, die in negativer Weise die Aktivität des sogenannten Forkhead-Transcription-Factor Class O1 (FOXO1) reguliert, indem sie zu dessen Ausschleusung aus dem Zellkern führt, nachdem er durch die Protein-Kinase-B (AKT) phosphoryliert wurde. In POMC/CART-Neuronen führt FOXO1 zu einer Inhibition der POMC-Gen-Transkription. Somit führt Insulin durch eine Ausschleusung von FOXO1 aus dem Kern zu einer Aktivierung der POMC-Transkription .

rie von übergewichtigen Menschen – auch im Hypothalamus eine Insulin-Resistenz vorliegt. Insulin kann demnach nicht mehr in dem Maße wie in gesunden Menschen „Satttheit“ vermitteln.

Leptin. Das Fettgewebshormon Leptin wurde erstmals im Jahre 1994 beschrieben, als man als Ursache für die massive Fettleibigkeit der sogenannten ob/ob-Maus eine autosomal rezessive Mutation im Leptin-Gen fand. Im Nager wie auch im Menschen wird Leptin von den Fettzellen ans Blut abgegeben. Je mehr Fett im Körper vorhanden ist, desto höher ist die Leptinkonzentration im Blut. Fehlt Leptin im Organismus, folgt daraus exzessive Nahrungsaufnahme und massive Fettleibigkeit, die durch die Behandlung mit Leptin wieder rückgängig gemacht werden kann.

Leptin entfaltet seinen Effekt über Bindung an einen spezifischen Rezeptor (Leptinrezeptor (Ob-Rb)), den man zu großem Ausmaß im Gehirn findet. Dort wird er speziell von Neuronen im Bereich des Nucleus arcuatus (ARC), des ventromedialen und dorsomedialen Hypothalamus (VMH und DMH), des lateralen Hypothalamus (LH) und der Area praeoptica exprimiert (Abbildung 1). Die Behandlung mit Leptin führt im gesunden Organismus zu einer Veränderung der neuronalen Aktivität in Hypothalamus und Hirnstamm. In das zerebrale Ventrikelsystem appliziertes Leptin führt in Mäusen zu einer dosisabhängigen Hemmung der Nahrungsaufnahme und zu einer signifikanten Gewichtsreduktion. Schaltet man in Mäusen neuronenspezifisch den Leptin-Rezeptor aus, erhält man übergewichtige Mäuse, die zudem an Diabetes leiden.

Leptin inhibiert die Aktivität Hunger vermittelnder AgRP/NPY-Neurone und aktiviert Satttheit vermittelnde POMC/CART-Neurone. In Zeiten ausreichender Versorgung mit Nahrung findet man ausreichend viel Fettgewebe, zirkuliert also viel Leptin im Körper, passiert die Blut-Hirn-Schranke und vermittelt durch Aktivierung von POMC/CART-Neuronen Satttheit. In Zeiten schlechter Nahrungsversorgung hingegen wird nur wenig Leptin vom Fett ins Blut abgegeben und die Hemmung der AgRP/NPY-Neurone ist schwach: dem Organismus wird Hunger signalisiert.

In den allermeisten Fällen ist jedoch nicht Leptin-Mangel die Ursache für Fettleibigkeit. Im Gegenteil: übergewichtige Menschen wie auch Nager zeigen stark erhöhte Leptin-Konzentrationen im Blut. Das weist auf eine Leptin-Resistenz hin, die auch durch Leptin-Behandlung nicht in den Griff gebracht werden kann. Diese Leptin-Resistenz scheint eine Kombination aus einem

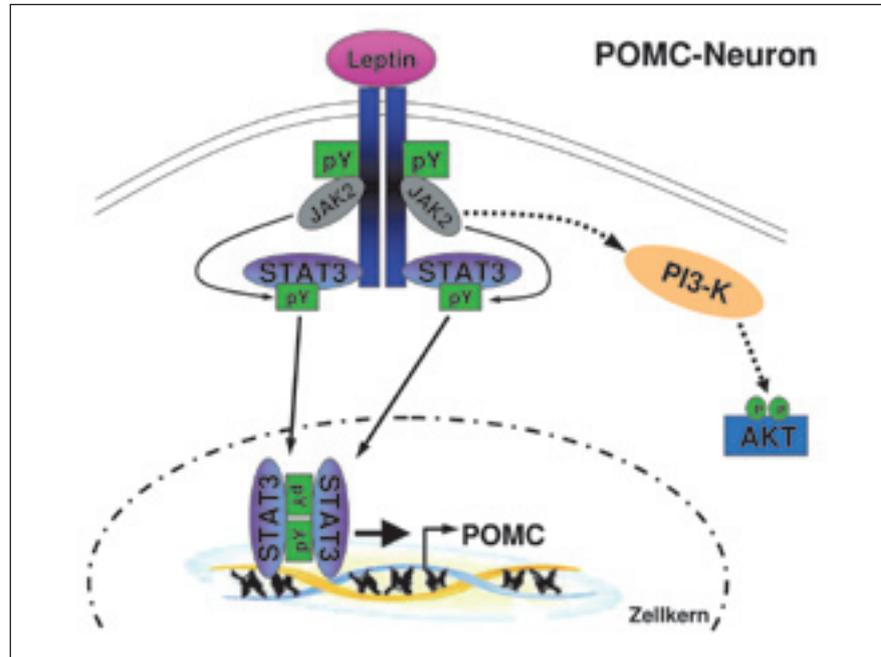


Abb 3.: Leptin reguliert die Transkription von Zielgenen in POMC-Neuronen. Der Leptin-Rezeptor besitzt eine Binde-Domäne für die Janus-Kinase (JAK), die nach Bindung von Leptin an den Rezeptor mit diesem assoziiert und zur Phosphorylierung des sogenannten Signal-Transducer-and-Activator-of-Transcription-3- (STAT3-) Proteins führt. STAT3 wandert in den Zellkern und aktiviert dort die Transkription des POMC-Gens. Somit führt Leptin über die Einschleusung von STAT3 in den Zellkern zu einer Aktivierung der POMC-Transkription .

reduzierten Transport von Leptin über die Blut-Hirn-Schranke und Defekten in der Leptin-Signalkaskade zu sein. Die damit eingeschränkte Leptin-Funktion in fettleibigen Patienten bewirkt wiederum eine reduzierte Satttheit vermittelnde Wirkung im Hypothalamus. Es kommt weiterhin zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme und Gewichtszunahme. Die molekularen Ursachen für die Leptin-Resistenz sind bis heute nicht endgültig geklärt.

Zellspezifische Inaktivierung einzelner Gene

Da an der Entstehung der krankhaften Fettleibigkeit die eingeschränkte zentrale Wirksamkeit von sowohl Insulin als auch Leptin maßgeblich beteiligt zu sein scheint, konzentriert sich die Suche nach möglichen Pathomechanismen auf die intrazellulären, rezeptorvermittelten Signalkaskaden in den Zielzellen dieser Botenstoffe im Hypothalamus. Die Methoden der molekularen Genetik ermöglichen es, bestimmte Gene zelltypspezifisch in Mäusen auszuschalten (sogenannte konditionale Knockouts) oder neue Gene in einen bestimmten Zelltyp einzubringen. Damit ist es möglich, einzelne Proteine/Enzyme, die an der Signalvermittlung beteiligt sind, zu inhibieren

oder zu aktivieren und somit Aufschluss über das Ausmaß einer solchen Modulation auf den Stoffwechsel des Organismus zu erlangen.

Eine derzeit häufig eingesetzte Methode ist das sogenannte „Cre/loxP-System“. Hierbei arbeitet man mit zwei verschiedenen Maus-Linien. Einerseits handelt es sich um eine konventionelle transgene Mauslinie, in der das sogenannte Cre-Rekombinase-Protein unter einem zelltyp-spezifischen Promotor exprimiert wird. Das bedeutet, dass man mithilfe des spezifischen Promotors eine bestimmte Zell- oder Gewebeart dazu bringt, das Cre-Rekombinase-Protein zu produzieren. Die zweite Mauslinie trägt das Zielgen flankiert von zwei Schneide-Markierungen, sogenannten loxP-sites. Die Veränderungen in diesen beiden Mauslinien bleiben ohne Auswirkung, bis man die beiden Linien kreuzt und so Nachkommen entstehen, die beide Veränderungen gleichzeitig tragen. In den Zellen, in denen spezifisch das Cre-Rekombinase-Protein produziert wird, erkennt nun dieses die loxP-sites, die das Zielgen flankieren, und schneidet die DNA an genau diesen Stellen. Das Zielgen wird ausgeschnitten, kann nicht mehr abgelesen werden und ist somit in diesen Zellen ausgeschaltet. In allen anderen Zellen und Geweben des Organismus bleibt das Gen aktiv.

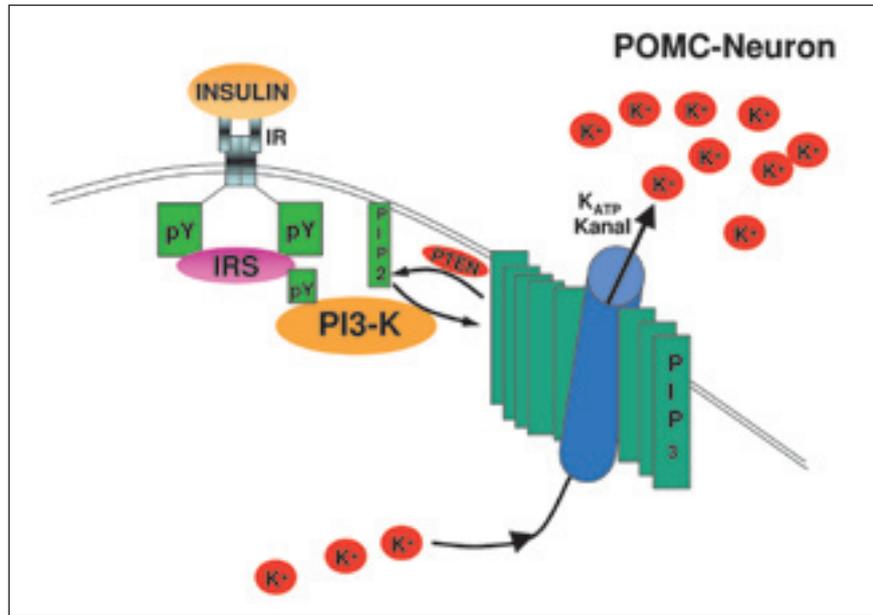


Abb 4.: Insulin führt in POMC-Neuronen über die Bildung von PIP₃ zu einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit von K_{ATP}-Kanälen. Daraus resultiert eine Hyperpolarisation der Zelle.

Mithilfe dieser Methode ist es in den letzten Jahren gelungen, einzelne Proteine, die an der Insulin- oder Leptin-Signalkaskade beteiligt sind, spezifisch in den Neuronen des Hypothalamus auszuschalten und dadurch wichtige Hinweise auf ihre genaue Wirkweise zu erhalten.

Insulin und Leptin beeinflussen die Transkription von POMC und AgRP

Insulin wirkt in seinen Zielgeweben und speziell in den Neuronen des Hypothalamus wie bereits erwähnt durch Bindung an den Insulinrezeptor. Hierbei handelt es sich um einen Transmembran-Rezeptor, der zur Familie der Tyrosin-Kinasen gehört. Die Bindung von Insulin führt zur raschen Autophosphorylierung des Rezeptors und in der Folge zur Aktivierung der sogenannten IRS-Proteine (Insulin-Rezeptor-Substrat-Proteine). Dadurch werden wiederum nachgeschaltete Signalwege wie die Mitogen-Aktivierte-Protein-Kinase (MAPK) und die Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase (PI3K) aktiviert. Letztere reguliert in negativer Weise die Aktivität des sogenannten Forkhead-Transcription-Factor Class O1 (FOXO1), indem sie zu dessen Ausschleusung aus dem Zellkern führt, nachdem er durch die Protein-Kinase-B (AKT) phosphoryliert wurde (Abbildung 2).

FOXO1 bedingt in POMC/CART- und AgRP/NPY-Neuronen unterschiedliche Effekte. In POMC/CART-Neuronen führt es regulär zu einer Inhibierung der POMC-

Gen-Transkription. Somit führt Insulin durch eine Ausschleusung von FOXO1 aus dem Kern zu einer Des-Inhibierung, also zu einer Aktivierung der POMC-Transkription (Abbildung 2). In AgRP/NPY-Neuronen verstärkt FOXO1 normalerweise die AgRP-Transkription. Insulin führt hier durch Ausschleusung von FOXO1 aus dem Kern zu einer verminderten Transkription von AgRP. Insulin stimuliert also die Produktion des Sättigung vermittelnden Neurotransmitters POMC und verringert die Produktion des Hunger vermittelnden Neurotransmitters AgRP.

Der Leptin-Rezeptor gehört zu einer anderen Klasse von Rezeptoren, nämlich zur Familie der Zytokin-Rezeptoren. Er besitzt eine Binde-Domäne für die Janus-Kinase (JAK), die nach Bindung von Leptin an den Rezeptor mit diesem assoziiert und zur Phosphorylierung des sogenannten Signal-Transducer-and-Activator-of-Transcription-3- (STAT3-) Proteins führt. Daraufhin wandert STAT3 in den Zellkern und beeinflusst dort die Transkription der Zielgene (Abbildung 3).

In POMC/CART-Neuronen aktiviert STAT3 die POMC-Transkription, somit führt Bindung von Leptin an seinen Rezeptor über Aktivierung von JAK und STAT3 zu vermehrter POMC-Transkription. In AgRP/NPY-Neuronen hingegen vermindert Leptin über den gleichen Mechanismus die AgRP-Transkription.

Kürzlich erschienene Studien konnten interessanterweise zeigen, dass es auf der

Ebene der PI3-Kinase zu einer Konvergenz der Insulin- und Leptin-Signalwege kommt. So führt eine Blockade der PI3-Kinase durch Einbringen des PI3-Kinase-Hemmstoffes LY294002 in das zerebrale Ventrikelsystem von Ratten zu einer Aufhebung des anorexigenen Effektes von Insulin und Leptin. Dies belegt eindrucksvoll, was für eine wichtige Rolle dem PI3-Kinase-Signalweg bei der Signalvermittlung beider Hormone zukommt.

Man findet dennoch Unterschiede im Effekt beider Hormone: Leptin führt im Vergleich mit Insulin zu einem weitaus schwächeren und kürzeren Effekt im Hinblick auf die Aktivierung der PI3-Kinase. Außerdem scheint die Aktivierung der PI3-Kinase durch Insulin und Leptin von Zelltyp zu Zelltyp zu variieren. Während Insulin und Leptin in POMC/CART-Neuronen synergistisch wirken, zeigen sie hinsichtlich der Aktivierung der PI3-Kinase gegensätzliche Effekte in AgRP/NPY-Neuronen. Aufgrund dessen beschäftigen sich aktuelle Studien vor allem mit der Wirkung von Insulin und Leptin auf genau charakterisierte Einzelzellen oder homogene Zellverbände (Plum et al. 2005).

Insulin und Leptin modulieren die elektrische Aktivität hypothalamischer Neurone

Die transkriptionelle Kontrolle der Neuropeptid-Expression spielt für die Funktion der hypothalamischen Regelkreise sicherlich eine wichtige Rolle. Dennoch rückt in letzter Zeit ein weiterer Aspekt in den Fokus der Forschung: für das Verständnis des physiologischen Einflusses der einzelnen Neurone ist das Ausmaß der Transmitter-Freisetzung an den Synapsen entscheidend. Daher ist die Regulation der elektrischen Aktivität und der Sekretion von Neuropeptiden hypothalamischer Neurone derzeit von höchstem Interesse.

Aktivierung der PI3-Kinase durch Insulin und Leptin reguliert die Erregbarkeit einer Zelle durch die Stimulation ATP-sensitiver Kaliumkanäle (K_{ATP}-Kanäle). Es konnte gezeigt werden, dass neben Adenosin-Nucleotiden auch Phospholipide wie Phosphatidyl-Inositol-4,5-Bisphosphat (PIP₂) und Phosphatidyl-Inositol-3,4,5-Triphosphat (PIP₃), welche Substrat bzw. Produkt der PI3-Kinase sind, an K_{ATP}-Kanäle binden können. PIP₃ scheint über noch nicht endgültig geklärte Mechanismen zu einer Herabsetzung der Bindungskapazität für ATP und damit zu einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit der K_{ATP}-Kanäle zu führen (Abbildung 4).

So konnten Spanswick et al. zeigen, dass K_{ATP} -Kanäle im Hypothalamus exprimiert werden und dort in nicht näher charakterisierten Neuronen als molekularer Endpunkt der Insulin- und Leptin-Signalkaskaden fungieren. Dies verwies auf die Hypothese, dass beide Hormone durch Veränderungen in der elektrischen Aktivität in ihren Zielzellen die Energie-Homöostase regulieren. Eingehendere Analysen zeigten jedoch ein komplexeres Bild, denn nur 45% der beobachteten Neurone im Nucleus arcuatus scheinen in ihrer elektrischen Aktivität regulierbar zu sein. Zudem verschwindet dieser Effekt vollständig in fettleibigen Mäusen, und in identifizierten POMC/CART-Neuronen haben Insulin und Leptin entgegengesetzte Effekte auf die elektrische Aktivität, obwohl in diesem Zelltyp, wie oben bereits erwähnt, beide Hormone die PI3-Kinase aktivieren. Dies deutet auf eine Wirkweise hin, die sowohl vom Zelltyp, als auch von der Stoffwechselsituation des Organismus abhängig zu sein scheint.

Ein Anheben der zellulären PIP3-Level spezifisch in POMC/CART-Neuronen durch den konditionalen Knockout des PI3-Kinase-Antagonisten Pten (phosphatase and tensin homolog) führt bei Mäusen zu übermäßiger Nahrungsaufnahme, Übergewicht und Leptin-Resistenz (Plum et al. 2005). Dem liegt eine PIP3-abhängige Aktivierung der K_{ATP} -Kanäle zugrunde, die zur Hyperpolarisierung der Zelle führt. Somit postuliert man, dass Insulin in POMC/CART-Neuronen zur Bildung von PIP3 und somit zur Hyperpolarisierung der Neuronen führt. Insulin scheint sogar in der Lage zu sein, die durch Leptin induzierte POMC/CART-Zell-Depolarisierung zu antagonisieren, was mehr als deutlich auf eine gegensätzliche Wirkung von Leptin und Insulin auf die Erregbarkeit von POMC/CART-Neuronen im Hypothalamus hinweist (Plum et al. 2005).

Hormone und synaptische Plastizität

Neben der zellautonomen Regulation der elektrischen Aktivität von Neuronen ist auch das Verhältnis von exzitatorischen zu inhibitorischen synaptischen Inputs für die Erregbarkeit einer Zelle von Bedeutung. Erst kürzlich konnten Pinto et al. zeigen, dass Leptin-Behandlung in ob/ob-Mäusen, denen Leptin fehlt und die damit höchst übergewichtig sind, innerhalb weniger Stunden zu einer Veränderung synaptischer Inputs führt (Pinto et al. 2004). Es ist ungeklärt, ob dies durch direkte Wirkung auf diese Neurone oder durch Effekte in

vorgeschalteten Neuronen geschieht. Auch Insulin wird ein Einfluss auf die synaptische Plastizität der am Energie-Stoffwechsel beteiligten Neuronen zugeordnet, jedoch fehlen bislang noch schlüssige Studien.

Ausblick

Periphere Hormone wie Insulin und Leptin signalisieren Neuronen im Hypothalamus und anderen Hirnregionen den Zustand der peripheren Energiereservoirs. Ein besseres Verständnis der Wirkmechanismen dieser Hormone bleibt auch für die Zukunft eine sehr wichtige Aufgabe. Durch die zahlreichen Studien der letzten Jahre wird allerdings deutlich, dass die Wirkweise dieser Hormone nicht allein durch transkriptionelle Regulation von Zielgenen erklärbar ist. Die Modulation der elektrischen Aktivität hypothalamischer Neurone ist von ebenso großer Bedeutung wie der mögliche Einfluss auf die synaptische Plastizität des gesamten Regelkreises, womit nur zwei mögliche weitere Wirkmechanismen erwähnt seien. Erst ein grundlegendes Verständnis der zentralen Regulation der Energie-Homöostase wird helfen, die in der westlichen Welt epidemische Ausmaße annehmende Fettleibigkeit und ihre gesundheitlichen wie volkswirtschaftlichen Folgen erfolgreich zu bekämpfen.

Literatur

- Woods, S.C., Seeley, R.J., Porte, D. Jr. und Schwartz, M.W. (1998): Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 280: 1378-1383.
- Gropp, E., Shanabrough, M., Borok, E., Xu, A.W., Janoschek, R., Buch, T., Plum, L., Balthasar, N., Hampel, B., Waisman, A., Barsh, G.S., Horvath, T.L. und Brüning, J.C. (2005): Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. *Nat Neurosci* 8: 1289-1291.
- Plum, L., Wunderlich, F.T., Baudler, S., Krone, W. und Brüning, J.C. (2005): Transgenic and knockout mice in diabetes research: novel insights into pathophysiology, limitations, and perspectives. *Physiology* (Bethesda) 20: 152-161.
- Brüning, J.C., Gautam, D., Burks, D.J., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P.C., Klein, R., Krone, W., Müller-Wieland, D. und Kahn, C.R. (2000): Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 289: 2122-2125.
- Plum, L., Ma, X., Hampel, B., Balthasar, N., Coppari, R., Muenzberg, H., Burdakov, D., Shanabrough, M., Rother, E., Janoschek, R., Alber, J., Belgardt, B.F., Koch, L., Seibler, J., Schwenk, F., Fekete, C., Suzuki, A., Mak, T.W., Krone, W., Horvath, T.L., Ashcroft, F.M. und Brüning, J.C. (2006): Enhanced PIP3 Signaling in POMC Neurons Causes Neuronal

Silencing via KATP Channel Activation and Leads to Diet-sensitive Obesity. *J Clin Invest* 116: in press.

- Pinto, S., Roseberry, A.G., Liu, H., Diano, S., Shanabrough, M., Cai, X., Friedman, J.M. und Horvath, T.L. (2004): Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin. *Science* 304: 110-115.

Kurzbiographien

Jens C. Brüning absolvierte von 1985 bis 1992 das Studium der Humanmedizin an der Universität zu Köln. Er war zunächst als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin der Universität zu Köln tätig, wonach er von 1994 bis 1997 als Postdoktorand im Labor von Prof. Dr. C.R. Kahn am Joslin Diabetes Center/Harvard Medical School, Boston/USA arbeitete. Nach seiner Rückkehr an die Universität zu Köln erhielt er den Ruf auf eine C4-Professur für Genetik an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln. Der Schwerpunkt seiner wissenschaftlichen Tätigkeit liegt in der Analyse der Signalwege in der Regulation der Energie-Homöostase anhand transgener und konditionaler Knockout Mausmodelle.

Eva Rother: Studium der Humanmedizin an den Universitäten Hamburg und Leipzig. Forschungsaufenthalt am New York Obesity Research Center der Columbia University im Jahre 2000. Klinische Tätigkeit in den Jahren 2003 bis 2005 an den Universitätskliniken Hamburg und Freiburg i. Brsg. Seit Mai 2005 Post-Doctoral-Fellow in der Arbeitsgruppe von Jens C. Brüning am Institut für Genetik der Universität zu Köln.

Bengt F. Belgardt: Studium der Biologie an der Universität zu Köln. Diplomarbeit über die Rolle der POMC-Neuronen in der Energie-Homöostase. Derzeit Promotion in der Arbeitsgruppe von Jens C. Brüning.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Jens C. Brüning
Universität zu Köln
Institut für Genetik
Zülpicher Str. 47
D-50674 Köln
Tel.: + 49 (0) 221 470 2467
Fax.: + 49 (0) 221 470 5185
e-mail: jens.brueining@uni-koeln.de