



Lost in Elimination: Mechanismen des Axonabbaus

Thomas Misgeld

Zusammenfassung

Axonabbau ist ein wichtiger Vorgang sowohl während der Entwicklung, als auch im Verlauf neurologischer Erkrankungen. Während die molekularen Mechanismen des Axonabbaus in vielen Fällen bisher ungeklärt sind, vermitteln moderne Bildgebungsverfahren ein zunehmend klareres Bild der zellulären Vorgänge, die es Nervenzellen ermöglichen, einzelne Axonäste oder auch ganze Teile ihrer Axonprojektion in kontrollierter Art und Weise abzubauen. In diesem Übersichtsartikel diskutiere ich die Charakteristika des bisher am besten verstandenen Axonabbauvorgangs, der post-traumatischen Wallerschen Degeneration. Im Weiteren beschreibe ich die Besonderheiten einer Reihe von Axonabbauprozessen, die in den letzten Jahren entdeckt wurden, und die den Verlust von axonalem Material nach Axotomien im Rahmen von neuroinflammatorischen Erkrankungen und im Verlauf der normalen Entwicklung des Nervensystems teilweise erklären können.

Abstract

Axon loss is an important process both in development and during diseases of the nervous system. While the molecular mechanisms that mediate axon loss are largely elusive, modern imaging technology affords an increasingly clear view of the cellular processes that allow nerve cells to shed individual axon branches or even dismantle entire parts of their axonal projections. In this review, I discuss the characteristics of post-traumatic Wallerian degeneration, the axon loss process, which is currently best understood. Subsequently, I describe the properties of a number of recently discovered axon loss phenomena. These phenomena explain some of the axon loss that occurs locally after axon transection, during neuroinflammatory insults and as part of normal neurodevelopment.

Keywords: Axon loss; degeneration; synapse elimination; *in vivo* imaging; transgenic mice

Einleitung

Während der Entwicklung des Nervensystems entstehen Milliarden von Nervenzellen, die durch ein Netzwerk von Nervenfortsätzen unvorstellbarer Komplexität verbunden sind. Da die Ausbildung dieses Netzwerkes das Wachstum von Axonen und Dendriten und die Ausbildung zahlloser Synapsen voraussetzt, stand das Studium des Ausbildung neuronaler Strukturen (beispielsweise des Axonwachstums und der Synapsenbildung) lange im Vordergrund des Bemühens, die Entwicklung des Nervensystems zu verstehen. Allerdings ist klar, dass ein wesentlicher Vorgang in der Genese neuronaler Netzwerke auch der Tod von Zellen und der Abbau von Axonen und Synapsen ist (Cowan et al. 1984; Luo und O'Leary 2005; Misgeld 2005; Purves und Lichtman 1980). Als Analogie mag die Entstehung einer Skulptur dienen – entweder durch den

Aufbau aus Ton, oder durch das Abschlagen von Marmor. Das entstehende Nervensystem bedient sich beider Strategien.

Es wurde früh entdeckt, dass „regressive“ Vorgänge maßgeblich zur Entwicklung und Physiologie des Nervensystems beitragen (Abbildung 1). Viele Nervenzellpopulationen umfassen während der Entwicklung mehr Zellen, als im ausgebildeten Organismus überleben. Diese Beobachtung war der Ausgangspunkt der Theorie der neuronalen Wachstumsfaktoren und hat unser Verständnis der Nervensystementwicklung maßgeblich mitbestimmt (Abbildung 1C) (Levi-Montalcini 1987). Im Weiteren wurde entdeckt, dass Nervenwachstumsfaktoren nicht nur das Überleben ganzer Zellen beeinflussen, sondern darüber hinaus auch den Erhalt oder den Abbau neuronaler Fortsätze beeinflussen können (Raff et al. 2002). Dies war eine der wesentlichen Entdeckungen, die das Studium des physi-

ologischen Axonabbaus als eigenständigem Forschungsbemühen begründet haben. Ein anderer Einfluss, der diese Fragestellung ins Blickfeld der Neurobiologie gerückt hat, geht noch weiter zurück – zur Entdeckung der post-traumatischen Axondegeneration durch Augustus Waller (Abbildung 1A) (Waller 1850). Diese Entdeckung hat die Neurowissenschaften wesentlich beeinflusst: Zum einen als zentrales Argument dafür, dass es sich bei Axonen tatsächlich um Differenzierungen von Nervenzellen handelt, die dauerhaft in einer trophischen Abhängigkeit vom Zellkörper in neuronalen Kerngebieten stehen. Zum anderen als Ausgangspunkt für die auf der kontrollierten Degeneration beruhenden Kartierung neuronaler Verbindungen. Die Signifikanz der post-traumatischen Degeneration für Fragen der Neuropathologie hat Waller auch bereits betont. Dass lokale Degenerationsphänomene, die auf Nervenfortsätze beschränkt bleiben, zur Entwicklung des Nervensystems beitragen könnten, wurde jedoch erst später offenbar – obwohl bereits Ramon y Cajal das exzessive Wachstum von unreifen Neuriten festgehalten hatte (Abbildung 1B) (Garcia-Lopez et al. 2010). Die Arbeiten von Hubel und Wiesel (Abbildung 1D) zeigten, wie wesentlich transiente synaptische Verbindungen zur Verfeinerung adulter Verschaltungsmuster beitragen (Hubel und Wiesel 1977). Mit dieser Beobachtung begannen die Bemühungen, ein zelluläres Korrelat für solche transienten Verschaltungen zu finden und die Mechanismen zu verstehen, die es Nervenzellen erlauben, ihre Fortsätze in kontrollierter Art und Weise abzubauen.

Wie für fast alle Aspekte der synaptischen Physiologie und Pathologie war es die neuromuskuläre Endplatte, an der Untersuchungen zu den Mechanismen des physiologischen Axonabbaus zuerst durchgeführt wurden. Redfern entdeckte 1970 mittels elektrophysiologischer Methoden, dass unreife Muskelfasern mehrere erregende Eingänge empfangen – und interpretierte diese Ergebnisse korrekt als „Polyinnervation“ der Endplatte (Redfern 1970). Tatsächlich wurde diese Deutung umgehend durch morphologische Methoden bestätigt (Abbildung 1E) (Brown et al. 1976; Riley 1977). Das folgende Jahrzehnt brachte eine große Anzahl von Untersuchungen, die darauf abzielten, ein schlüssiges Modell der Umwandlungsvorgänge zu formulieren, die es unreifen Synapsen ermöglichen, ihre Innervation in Abhängigkeit von Aktivität so zu verändern, dass das reife Verschaltungsmuster resultiert. Dabei war klar, dass als Teil dieser Umbauvorgänge ein massiver

Noldus

Information Technology

Verhaltensuntersuchungen ohne Grenzen!

- Erfassen und beschreiben Sie Wegstrecken präzise und quantitativ
- Nutzen Sie die Hardwarekontrolle für vollautomatisierte Experimente
- Erfassen Sie ergiebige und aussagekräftige Verhaltensdaten
- Integrieren Sie physiologische Daten für ein besseres Verständnis von Verhalten
- Nutzen Sie vielfach validierte und tausendfach zitierte Produkte



EthoVision® XT – vielseitige Videotrackingsoftware zur automatisierten Verhaltens-, Bewegungs- und Aktivitäts-Erfassung sowie – Analyse bei Tieren – geeignet für praktisch jeden Versuchsaufbau!

The Observer® XT – die leistungsstärkste und nutzerfreundlichste Software zur Erfassung, Analyse und Presentation von Verhaltensdaten.

CatWalk™ XT – das innovative, videobasierte System zur Quantifizierung von Lokomotionsmerkmalen und Ganganpassungen, bei sich freiwillig bewegenden Mäusen und Ratten.

DanioVision™ – ein kompaktes Plug & Play-System zur effizienten Aktivitäts-, Bewegungs- und Verhaltensfassung bei Zebrafischlarven in Multi-Well Plates – basierend auf EthoVision XT.

PhenoTyper® – das hochentwickelte, videobasierte System zur Beobachtung von Nagerverhalten in einem interaktiven Basis- oder Wohnkäfig.

Hardware components – Noldus hat eine Vielzahl Geräte und Mazes im Programm, und bietet damit Komplettlösungen für simple bis hochkomplexe Experimente an.

Werkzeuge und Lösungen für die Verhaltens-Neurowissenschaften

www.noldus.com

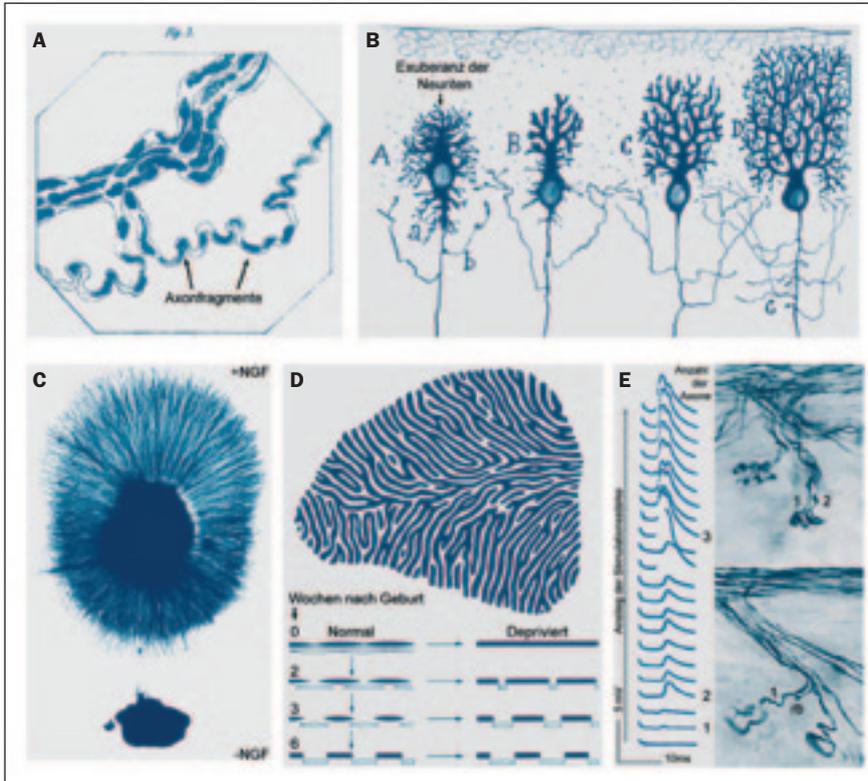


Abb. 1: Historische Wurzeln des Studiums des Axonabbaus.
A) Erstbeschreibung der Wallerschen Degeneration anhand eines degenerierenden Nervenfasikels in der Zunge eines Frosches. Nach Abbildung 3 aus (Waller 1850). NGF – Bild aus Levi-Montalcini. **B)** Ausbildung überschießender Neuriten – hier Dendriten von Purkinjezellen in einer Abbildung von Ramon y Cajal, nach (Garcia-Lopez et al. 2010). **C)** Abhängigkeit des Überlebens von Nervenzellen und ihrer Fortsätze von der Präsenz exogener Wachstumsfaktoren. Hinterwurzelganglion des Hühnchens in isolierter Kultur. R. Levi-Montalcini und Viktor Hamburger; Abbildung modifiziert nach (Purves und Lichtman „Principles of Neural Development“, Sinauer Associates, 1985). **D)** Verteilungsmuster der okulären Dominanzsäulen in Schicht IV des visuellen Kortex beim Affen; darunter Modell der nachgeburtlichen Veränderungen des zugrundeliegenden Innervationsmusters (rechts) – und der aus einer Unterdrückung der neuronalen Aktivität durch Verschluss eines Auges resultierenden Störung dieser Vorgänge (links). Nach (Hubel und Wiesel 1977). **(E)** Entdeckung der Polyinnervation der neuromuskulären Endplatte durch Redfern mittels Stimulation eines Muskelnerven mit Reizen von ansteigender Stärke und gleichzeitiger postsynaptischer Ableitung (links); modifiziert nach (Redfern 1970). Morphologisches Korrelat der Polyinnervation (rechts, oben) und des Axonabbaus („rb“, retraction bulb) nach (Riley 1978). © A,D) Abdruck mit Genehmigung der Royal Society of London; B) Abdruck mit freundlicher Genehmigung der Erben Santiago Ramon y Cajals.

Abbau von Axonästen erfolgen muss. Der Mechanismus dieses Axonabbaus hingegen blieb im Dunkeln. Ein intensives Bemühen um diese Frage ist jüngerer Datums und wesentlich beeinflusst von genetischen Einsichten, die primär aus neuropathologischen Quellen stammen und auf den ersten Blick wenig mit Entwicklungsbiologie zu tun haben. Aus der Analyse der Wallerschen Degeneration resultierte die Einsicht, dass es sich beim Abbau von Axonen nicht um einen simplen Vorgang des Zerfalls – quasi der „Verrottung“ – handelt, sondern um einen

regulierten Prozess des „Zurechtstutzens“ (*pruning*) (Raff et al. 2002).

Wallersche Degeneration

Die Durchtrennung eines Axons hinterlässt ein „verwaistes“ Axonfragment ohne Verbindung zum Zellkörper, dem trophischen Zentrum des Neurons (Waller 1850). Derartige Axonfragmente verschwinden nach einiger Zeit durch einen Prozess, der als „Wallersche Degeneration“ bekannt ist. Überraschenderweise handelt es sich nicht

um einen langsamen Atrophieprozess, wie es der Verlust aller Versorgung durch axonalen Transport vermuten lässt. Im Gegenteil, sowohl im peripheren als auch im zentralen Nervensystem bleiben durchtrennte Axone für eine variable Zeitspanne von ca. 12 Stunden bis zwei Tagen weitgehend unverändert (*lag phase*), bevor sie eine explosionsartige Fragmentierung durchlaufen, die zur Ausbildung von isolierten Axon- und Myelinfragmenten führt (Abbildung 2). Die ungewöhnliche Dynamik der Wallerschen Degeneration liefert einen Hinweis darauf, dass es sich beim Verlust von Axonfragmenten nicht um einen „passiven“ Vorgang handelt, sondern wahrscheinlich um ein aktives zelluläres Programm (Raff et al. 2002). Der Fragmentierung des Axons geht eine Serie intraaxonaler Veränderungen voraus, einschließlich eines Anstieges des intrazellulären Kalziums, der Aktivierung kalziumabhängiger Proteasen und der Zerstörung des Zytoskeletts (Coleman und Freeman 2010). Allerdings finden auch diese intrazellulären Veränderungen erst mit erheblicher Verzögerung statt. Es resultiert eine Destabilisierung der Axonstruktur, die zuerst zur Ausbildung perlschnurartiger Schwellungen führt, dann zur Fragmentierung. Diese Vorgänge spielen sich im Gewebekontext ab – bei myelinisierten Axonen in Nachbarschaft glialer Hüllzellen, also Schwannscher Zellen und Oligodendrozyten. Axonfragmente sind von Gliazellen umgeben und werden u.a. von diesen verdaut. An den Abräumvorgängen nehmen auch Makrophagen und Mikrogliazellen teil (Hirata und Kawabuchi 2002). Diese enge Beteiligung nicht-neuronaler Zellen deuten einerseits auf das Vorhandensein spezifischer „Fresssignale“ auf fragmentierenden Axonen hin, die von Gliazellen erkannt werden – und tatsächlich sind erste derartige Signale in Invertebratenmodellen identifiziert worden (MacDonald et al. 2006). Andererseits ist auch klar, dass die Wallersche Degeneration an sich nicht von Gliazellen abhängt – auch in isolierter Kultur führt die Durchtrennung von Axonen zur Degeneration der betroffenen „nackten“ Axone.
 Die späten Schritte der Wallerschen Degeneration – speziell die schnelle Fragmentierung und die damit verbundene transiente Auflösung der Membranintegrität – sind mechanistisch bisher nicht gut verstanden. Noch unklarer ist, woraus die Verzögerungsphase zu Beginn der Degeneration resultiert. Welche langsamen molekularen Vorgänge dienen als intra-axonale „Uhr“, deren Ablauf das Ende des axonalen Lebensfadens markiert? Erste Einsichten in die molekularen Programme, die der Wallerschen Degene-

ration zugrundeliegen, ergeben sich aus der in den letzten Jahren erfolgten Analyse einer bemerkenswerten spontanen Mausmutante, die unter dem Namen „Wallerian degeneration slow“ (Wld^S) bekannt geworden ist (Coleman und Freeman 2010).

Wallerian degeneration slow - WLD^S

Der Wld^S-Phänotyp besteht darin, dass die Wallersche Degeneration nach Axotomie massiv verzögert ist. Dies war initial ein Zufallsbefund in der Arbeitsgruppe von Hugh Perry bei Untersuchungen im peripheren Nervensystem (Lunn et al. 1989). Abgetrennte Axonstümpfe in dieser (semi-) dominanten Mausmutante können noch über Tage nach Durchtrennung Aktionspotenziale weiterleiten, obschon die Bewahrung von präsynaptischen Terminalien weniger ausgeprägt ist als die von internodalen Axonabschnitten (Gillingwater und Ribchester 2001). Weitere Untersuchungen zeigten, dass die Wld^S-Mutation die Degeneration von Axonstümpfen nicht nur im peripheren, sondern auch im zentralen Nervensystem

verlangsamt (Coleman und Freeman 2010; Perry et al. 1991). Ebenso konnte über Transplantationsexperimente gezeigt werden, dass der Defekt wahrscheinlich auf Seiten der Nervenzellen und nicht im Bereich der abräumenden Gliazellen oder Makrophagen liegt (Glass et al. 1993). Über den posttraumatischen Defekt hinaus zeigen Wld^S-Mäuse keinen offensichtlichen spontanen Phänotypen, was darauf hindeutet, dass die Mutation zumindest keine essenziellen Entwicklungsschritte hemmt. Selbst das post-traumatische Auswachsen von peripheren Axonen (die zu spontaner Regeneration befähigt sind) wird durch die Persistenz von Axonfragmenten nur verzögert (Brown et al. 1991; Brown et al. 1992). Allerdings muss man bei Erwägung des Phänotyps im Kopf behalten, dass die spontane Mutation, vor allem in ihrer heterozygoten Form, Axonstümpfe nur vorübergehend bewahrt. Danach setzt ein langsamer axonaler Axonabbau ein, dessen Beziehung zur eigentlichen Wallerschen Degeneration nicht geklärt ist und der kompensatorisch manche Funktionen überneh-

men könnte (Gillingwater und Ribchester 2003). Eine unvorhergesehene Konsequenz der Wld^S-Mutation ist die Abmilderung verschiedener Modelle neurologischer Erkrankungen (Coleman und Perry 2002). Dies wurde z.B. für toxische (Wang et al. 2001; Wang et al. 2002) und genetisch bedingte (Samsam et al. 2003) periphere Neuropathien demonstriert, aber ebenso für bestimmte Formen der Motoneurondegeneration (Ferri et al. 2003, aber s. Fischer et al. 2005) und für zentrale Formen der Neuropathologie, wie ischämische (Gillingwater et al. 2004) und degenerative (Mi et al. 2005) Veränderungen. Diese Beobachtungen sind bemerkenswert, da die ursprüngliche Beschreibung der Mutation lediglich den distalen Stumpf eines durchtrennten Axons betraf, der aufgrund der Durchtrennung ohnehin keine Aktionspotenziale mehr weiterleitet. Eine Verbesserung der aus der Nervdurchtrennung resultierenden Funktionsverluste ist durch Erhalt des Stumpfes eigentlich nicht zu erwarten. Warum bei primär nicht-traumatischen Erkrankungsmodellen dennoch eine Abmilderung von

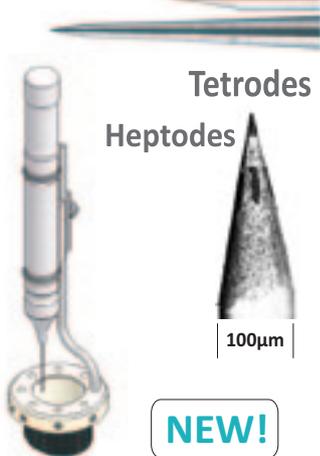


Thomas RECORDING GmbH

High Tech Made in GERMANY - info@ThomasRECORDING.com

Visit us at the 8th IBRO World Congress in Florence, July 14-18, 2011, Booth #66

Electrodes



Tetrodes

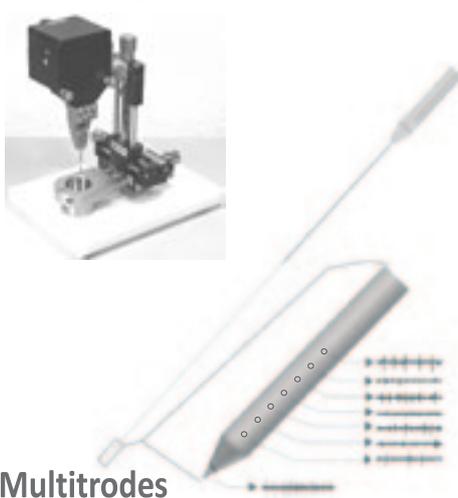
Heptodes

100µm

NEW!

Thomas Pencil Drive

Microdrives



Multitrodes

Telemetric Controlled Microdrive System



NEW!

4 channels wireless



For 20 Years complete Neuro-Laboratory Equipment available from:

www.ThomasRECORDING.com



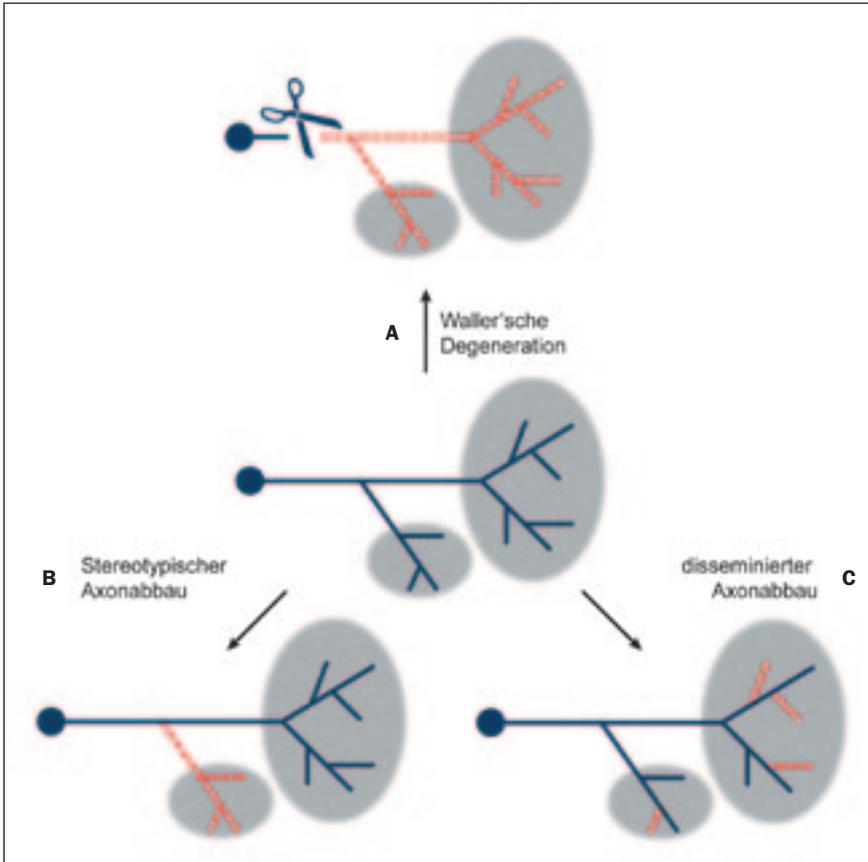


Abb. 2: Klassifikation des Axonabbaus.

A) Wallersche Degeneration. Mit einer Verzögerung von vielen Stunden zerfällt (rot) die gesamte Axonprojektion (blau) unterhalb einer Axotomie, wodurch das gesamte Innervationsgebiet (grau) denerviert wird. **B) Stereotypischer Axonabbau.** Ein vorhersagbarer und anatomisch umschriebener Teil einer Axonprojektion wird abgebaut. **C) Disseminierter Axonabbau.** Einzelne Axonäste werden abgebaut, aber andere Äste bleiben erhalten.

Symptomen im Wld^S-Kontext resultieren kann, ist unklar. Allerdings (s. unten) gibt es neuere Hinweise, dass auch im proximalen Axonstumpf degenerative Vorgänge in Gang kommen, die durch die Wld^S-Mutation unterdrückt werden. Zusätzlich ist bei vielen Neuropathologien eine Axonschädigung mit spontaner Durchtrennung zu vermuten. Obwohl in den meisten Fällen die Gründe für diese spontanen Axotomien nicht bekannt sind, so erscheint es doch möglich, dass es sich um die lokale Aktivierung eines „Waller-artigen“ intra-axonalen Programms handelt. Diese Beobachtungen an Krankheitsmodellen geben der Wld^S-Mutation eine erhebliche pathogenetische Relevanz. Martin Raff und Kollegen haben früh darauf hingewiesen, dass die Wld^S-Mutation und Beobachtungen zum lokalen Axonabbau nach Neurotrophinentzug klare Analogien zu anderen „regressiven“ Phänomenen aufweisen – speziell zu Formen des programmierten Zelltodes, der Apoptose (Raff et al. 2002). Diese Analogie beinhaltet

die Erwartung, dass – wie bei der Apoptose – ein molekulares „Programm“ für den kontrollierten Axonabbau existiert. Dieses könnte einerseits wichtige entwicklungsbiologische Rollen spielen und zugleich einen Angriffspunkt bieten, Fehlregulationen des Axonabbaus therapeutisch zu korrigieren. Daher hat die Frage nach den molekularen Mechanismen der Wallerschen Degeneration in den letzten Jahren erhebliches Forschungsinteresse auf sich gezogen.

Die Arbeitsgruppe von Michael Coleman hat über mehr als ein Jahrzehnt die Pionierleistungen auf diesem Gebiet erbracht (Coleman und Freeman 2010). Diese Bemühungen gipfelten in der Klonierung des für den Wld^S-Phänotypen verantwortlichen Genproduktes (Coleman und Perry 2002). Dies erwies sich als Fusionsprotein zwischen dem katalytisch aktiven Anteil eines Enzyms der NAD-Biosynthese (*Nmnat1*), einem kurzen, durch die Fusion entstandenen Polypeptid von 18 Aminosäuren Länge, und einem – enzymatisch inakti-

ven – Fragment eines Ubiquitin-Transferfaktors (*Ube4b*). Mit dieser Entdeckung war es möglich, den Wld^S-Phänotypen in transgenen Mäusen zu rekonstituieren (Mack et al. 2001) und auch auf andere Tierarten zu übertragen (bisher auf die Ratte, Adalbert et al. 2005, den Zebrafisch, Martin et al. 2010, und die Tauffiege, MacDonald et al. 2006). Zugleich wurde der Weg frei, den Anteil der verschiedenen Domänen des Proteins am Phänotypen zu untersuchen (Coleman und Freeman 2010) – nicht zuletzt in der Hoffnung, erste molekulare Einsichten in die endogenen Mechanismen der Axondegeneration, d.h. das degenerative „Programm“, zu gewinnen.

Da das Ubiquitinierungssystem als eines der wichtigsten katabolen Systeme der Zelle bei der Axonfragmentation eine Rolle zu spielen scheint (Zhai et al. 2003), konzentrierten sich erste Untersuchungen auf diese Domäne des Proteins. Allerdings konnte in den letzten Jahren eindeutig gezeigt werden, dass eine für den Axonabbau wesentliche enzymatische Aktivität des Wld^S-Fusionsproteins im aktiven Zentrum der *Nmnat1*-Domäne residiert (Coleman und Freeman 2010). Erhebliche Verwirrung ergab sich auch aus der Tatsache, dass das Wld^S-Fusionsprotein eine ausgeprägte Kernlokalisation aufweist (Mack et al. 2001) – ein verblüffendes Phänomen, wenn man bedenkt, dass sich die protektive Funktion des Proteins im vom Kern getrennten distalen Axonfragment manifestiert. Neue Untersuchungen in transgenen Mäusen, Tauffliegen und Zellkulturen zeigen nun allerdings, dass die dominante Kernlokalisation des Proteins ein Epiphänomen darstellt, und dass für eine effiziente Axonprotektion die axonale Lokalisation des Fusionsproteins unabdingbar ist (Babetto et al. 2010; Beirowski et al. 2009; Conforti et al. 2007). Diese ist allerdings von niedrigem Niveau und daher schwer nachweisbar.

So faszinierend der Wld^S-Phänotyp auch ist, durch die komplexe Art des zugrundeliegenden Defektes (wahrscheinlich ein Funktionsgewinn, *gain of function*) ist es nicht einfach möglich, auf die endogenen Einflussfaktoren zurückzuschließen, die unter normalen Bedingungen den Ablauf der Wallerschen Degeneration kontrollieren. Offensichtliche Kandidaten sind die drei endogenen *Nmnat*-Gene (*Nmnat 1-3*). Tatsächlich können alle drei Genprodukte schützend auf Axonfragmente einwirken, wobei das im Wld^S-Fusionsprodukt enthaltene *Nmnat 1* tendenziell weniger potent wirkt als das zytoplasmatische *Nmnat 2* oder das mitochondriale *Nmnat 3* (Conforti et al. 2007; Gilley und Coleman 2010; Ya-

hata et al. 2009). Allein durch Einbringen in das Axon lässt sich aber eine schützende Wirkung von *Nmnat 1* herbeiführen, was möglicherweise die Wirkungsweise der *Wld^S*-Mutation erklärt (Babetto et al. 2010). Die Coleman-Gruppe hat jüngst nachweisen können, dass die physiologische Halbwertszeit von *Nmnat 2* am ehesten den Anforderungen einer inneren „Uhr“ des Axons entspricht, die konstitutiv die Stabilität des Axons gewährleistet (Gilley und Coleman 2010). Protektive Spiegel des Proteins werden nach dieser Hypothese durch axonalen Transport aufrechterhalten, welcher durch die Axotomie im distalen Axonsegment zum Erliegen kommt. Diese Theorie hat einen intuitiven Reiz; ob sie allerdings einer strengeren Prüfung standhalten wird, bleibt abzuwarten. Bei den kommenden Versuchen, diese Hypothese zu widerlegen, wird es von großem Nutzen sein, dass mittlerweile Methoden existieren, die es erlauben, degenerative Veränderungen an Axonen direkt in lebenden Tieren zu verfolgen (Misgeld und Kerschensteiner 2006).

In-vivo-Mikroskopie und Axonabbau

Die Degeneration von Axonen war eines der ersten Phänomene, das mittels intravitale Mikroskopie im Nervensystem untersucht wurde (Hollander und Mehraein 1966; Williams und Hall 1971). Allerdings war es bei diesen frühen Untersuchungen ein Problem, dass lediglich endogener Kontrast (speziell Lichtbrechung an der Myelinscheide) zur Beobachtung des Gewebes genutzt werden konnte. Daher konnten beispielsweise subtile Veränderungen am Axon, die einer Fragmentierung womöglich vorausgehen, nicht sicher identifiziert werden. Dies änderte sich erst mit der Verfügbarkeit transgener Mäuse mit fluoreszenzmarkierten Axonen. Hierbei handelt es sich um Mäuse („*Thy1*-XFP-Mäuse“), die hohe Konzentrationen von Farbvarianten des grün-fluoreszierenden Proteins (GFP) in Nervenzellen exprimieren. Diese Mäuse wurden in den Labors von Joshua Sanes und Jeff Lichtman generiert (Feng et al. 2000). Ihre Besonderheit liegt darin, dass es neben *Thy1*-XFP-Mäusen, deren Axonen alle gleichermaßen fluoreszierend sind, auch

andere Mausstämmen gibt, bei denen nur ein kleiner Prozentsatz der Axone fluoresziert (Abbildung 3). Die genaue genetische Erklärung für diese speziellen Expressionsmuster fehlt – durch die resultierende Möglichkeit allerdings, im lebenden Organismus einzelne Axone zu beobachten, wurden Untersuchungen möglich, die ein dynamisches Bild des Axonabbaus vermitteln. Auf diese Weise war es möglich, die klassischen Studien von Waller oder Cajal (Abbildung 1) in animierter Form wieder aufleben zu lassen.

Im Bereich der Axondegeneration widmeten sich erste Studien der Frage nach dem Regenerationsverhalten peripherer Axone (Nguyen et al. 2002; Pan et al. 2003). Histologische Studien basierend auf *Thy1*-XFP-Mäusen wurden auch genutzt, um die Eigenschaften der Wallerschen Degeneration im Detail zu untersuchen (Beirowski et al. 2004; Beirowski et al. 2005). Dabei konnte gezeigt werden, dass auch unter normalen Bedingungen langfristig axonale Fragmente persistieren – und dass Axonregeneration normalerweise in Gegenwart derartiger Fragmente stattfindet. Zusätzlich wurde gezeigt,

Motorized Stereotaxic

The 3rd generation of stereotaxic instruments



- Atlas Integration
- High Accuracy
- High Reproducibility
- High Throughput

Smart Add-Ons

- **Drill Robot**
- **Microinjection Robot**
- **Microdialysis Robot**



www.neurostar.de
 info@neurostar.de
 +49 7031 415065



dass das Degenerationsverhalten nach einer Axonschädigung vom Schädigungsmechanismus abhängt (Beirowski et al. 2005). So kommt es nach einer Durchtrennung eines Nervs zu einem Zerfall in proximal-distaler Richtung, während nach einer Nervenquetschung die Fragmentierung in umgekehrter Richtung erfolgt. Die Grundlage dieser Befunde ist bisher ungeklärt, sie stellen aber wichtige Randbedingungen für transportbasierte Modelle der Wallerschen Degeneration dar (Coleman und Freeman 2010). Zusätzlich haben diese Bildgebungsverfahren als methodische Grundlage für die Analyse der funktionellen Domänen des Wld^S-Fusionsproteins gedient (Beirowski et al. 2004).

Die wesentliche Erweiterung unserer Sicht auf die Phänomenologie und die Mechanismen des Axonabbaus resultierten allerdings aus der Kombination von *Thy1*-XFP-Mäusen mit *In-vivo*-Mikroskopieansätzen (Misgeld und Kerschensteiner 2006). Dies ermöglichte es, spontane Axonabbauvorgänge während der Entwicklung zu visualisieren und neue Formen des pathologischen Axonabbaus zu entdecken. Diese Beobachtungen möchte ich im Folgenden einzeln darstellen.

Klassifikation des Axonabbaus

Neben der klassischen, post-traumatischen Wallerschen Degeneration, die in den vorherigen Abschnitten beschrieben wurde, gibt es andere Formen des Axonverlustes. Diese lassen sich grob unterteilen in pathologische Formen des Axonverlustes (neben der Wallerschen Degeneration, z.B. axonales Rücksterben, *die-back*; s. unten) und physiologische Formen des Axonabbaus (Coleman und Perry 2002; Luo und O'Leary 2005; Vanderhaeghen und Cheng 2010). Unter physiologischen Bedingungen tritt Axonabbau vor allem während der Entwicklung in vielen Bereichen des Nervensystems auf (Abbildung 4). Dabei lassen sich grob zwei Formen des Axonabbaus unterscheiden: Eine Form, bei der es stereotypisch zum Verlust ganzer Axonprojektionen kommt (*stereotypical pruning*), zum anderen disseminiertes „Ausdünnen“ einzelner Axonäste innerhalb einer Axonprojektion (Abbildung 2).

Zum stereotypischen Axonabbau kommt es, wenn axonale Projektionen während der Entwicklung zuerst eine Zielregion innervieren, mit der sie nicht dauerhaft in Verbindung bleiben (Innocenti und Price 2005; Lichtman und Colman 2000; Luo und O'Leary 2005). So projizieren Axone von okzipitalen Schicht-5-Pyramidenzellen initial in die spinale Pyramidenbahn (Cowan et al. 1984; Stanfield et al. 1982). Diese Projektion bleibt im ausgereiften Nervensystem nicht erhal-

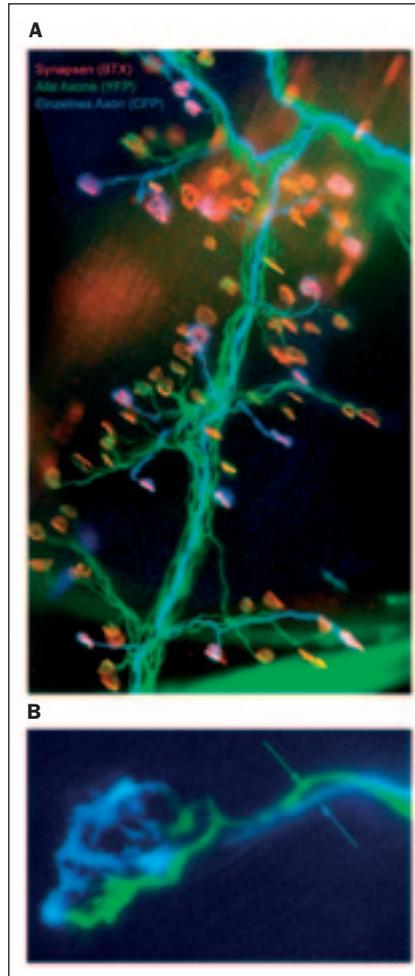


Abb. 3: Thy1-XFP-Mäuse.

A) Niedrig vergrößerte Übersichtsaufnahme über einen akut explantierten Muskel einer doppelt-transgenen Thy1-XFP-Maus, die YFP (grün) in allen Axonen und CFP (blau) in einem einzigen Motoraxon exprimiert. Synapsen sind mittels Bungarotoxin (BTX) dargestellt. B) Doppelt innervierte neuromuskuläre Endplatte – beide Axone sind mit YFP markiert (grün), eines zusätzlich mit CFP (blau – Cyan erscheint als Mischfarbe).

ten. Ähnlich schießen die Axone retinaler Ganglienzellen im optischen Tektum über ihr topografisch zugeordnetes Zielgebiet hinaus und werden im weiteren Verlauf der Entwicklung auf ihr dauerhaftes Zielgebiet „zurückgestutzt“ (Feldheim und O'Leary 2010). Ähnliche überschießende Projektionen existieren auch im Hippocampus (Faulkner et al. 2007). Morphologisch weist der stereotype Verlust von Axonen Ähnlichkeiten mit der Wallerschen Degeneration auf (Nakamura und O'Leary 1989). Aufgrund dieser Ähnlichkeiten wurde erwartet, dass beiden Vorgängen derselbe Mechanismus

zugrundeliegt. Allerdings haben direkte Untersuchungen zumindest für einzelne Formen des stereotypischen Axonabbaus eine Beteiligung eines Wld^S-abhängigen Mechanismus nicht bestätigen können (Hoopfer et al. 2006; Parson et al. 1997). Dennoch bleibt eine bemerkenswerte Analogie zwischen dem spontanen Abbau unnötiger Projektionen und dem post-traumatischen Verlust distaler Axonsegmente: (1) In beiden Fällen wird das Axon vollständig unterhalb eines bestimmten Punktes abgebaut (bei der Wallerschen Degeneration unterhalb der Durchtrennung; beim stereotypischen Axonabbau distal des Verzweigungspunktes von dauerhaften und transienten Anteilen der Axonprojektion) (Luo und O'Leary 2005). (2) Der Abbauprozess scheint in einer langstreckigen Fragmentierung zu resultieren (Nakamura und O'Leary 1989). (3) Zumindest bei Invertebraten wurde während des stereotypischen Axonabbaus ein frühzeitiger Abbau von mikrotubulären Strukturen beschrieben, und ebenso die Beteiligung glialer Zellen am Axonabbau (Awasaki und Ito 2004; Watts et al. 2004). Beide Faktoren – früher Verlust zytoskeletaler Elemente und glialer Abbau – spielen auch bei der Wallerschen Degeneration eine Rolle (Coleman und Freeman 2010; Hirata und Kawabuchi 2002). Allerdings treten diese Phänomene auch bei anderen Formen des Axonabbaus auf (Bishop et al. 2004) (s. unten). Darüber hinaus gibt es bisher keine direkte Evidenz für eine Beteiligung glialer Zellen am stereotypischen Axonabbau bei Wirbeltieren (Cheng et al. 2010; Liu et al. 2005; Low et al. 2008; aber siehe Innocenti und Price 2005). Es bleibt also abzuwarten, ob die Ähnlichkeiten zwischen post-traumatischem und stereotypischen Axonabbau nur oberflächlicher Natur sind, oder ob es nicht doch tiefer greifende mechanistische Verwandtschaften gibt. Neue Daten, die auf eine entwicklungsbiologische Rolle Wld^S-abhängiger Prozesse hinweisen (Martin et al. 2010; Schoenmann et al. 2010), sollten als Hinweis darauf gewertet werden, dass das letzte Wort bezüglich einer entwicklungsbiologischen Rolle des Wallerschen Degenerationsmechanismus noch nicht gesprochen ist. Eine große Herausforderung bleibt hier die Tatsache, dass es bisher nicht gelungen ist, den Vorgang der stereotypischen Axonabbaus direkt zu beobachten. Derartige Untersuchungen könnten fundamentale Fragen zur Ähnlichkeit zwischen post-traumatischen und physiologischen Abbauvorgängen beantworten. Zum Beispiel wissen wir nicht, ob es während des stereotypischen Axonabbaus lokal zu spontanen Axondurchtrennungen kommt, die nach einer Verzögerung zur

plötzlichen Fragmentierung führen – ganz analog zu den Ereignissen, die nach einer mechanischen Durchtrennung des Axons ablaufen.

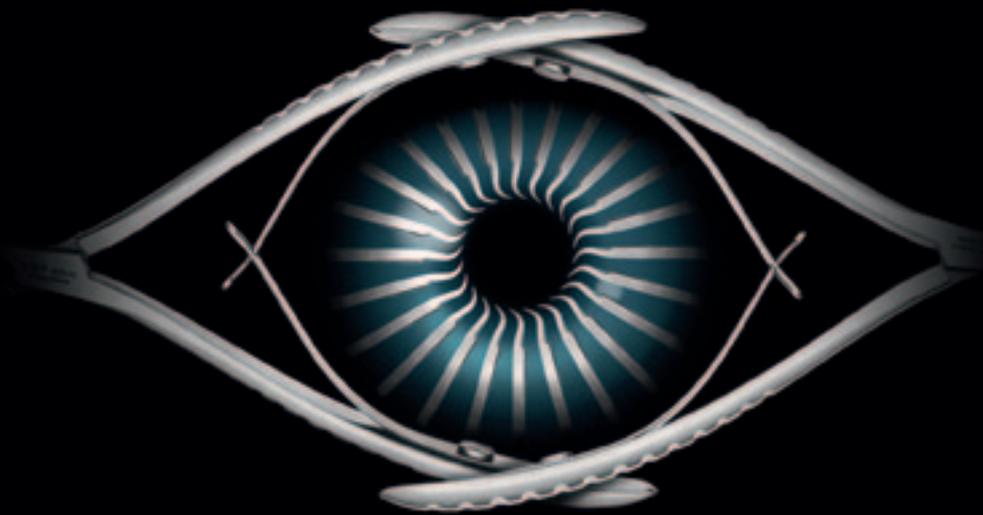
Dem stereotypischen Abbau ganzer Teilprojektionen steht der weniger vorhersagbare Abbau einzelner Axonäste innerhalb einer Projektion gegenüber. Typische Formen dieser Art des Axonabbaus sind der Übergang der neuromuskulären Endplatte von einem Zustand der Innervation durch mehrere Motoraxonäste zum adulten Muster der alleinigen Innervation durch ein einziges Axon (Lichtman und Colman 2000). Sehr ähnliche Vorgänge bestimmen das Verschaltungsmuster zerebellärer Kletterfasern (Kano und Hashimoto 2009), oder die Innervation autonomer Ganglien (Purves und Lichtman 1978) – und können auch in nicht-synaptischen Projektionen, wie peripheren sensorischen Axonen, auftreten (Martin et al. 2010). Auch in den Projektionen des visuellen (Antonini und Stryker 1993) und des auditorischen (Jackson und Parks 1982) Systems wurden Veränderungen der Verschaltung beobachtet, die sich durch den disseminierten Verlust

einzelner axonaler Eingänge erklären lassen (Abbildung 4). Charakteristisch für diese Form des Axonabbaus ist, dass sie oft die Folge eines aktivitätsabhängigen „Wettstreites“ zwischen Axonen um alleinige Innervation der postsynaptischen Zelle sind (Lichtman und Colman 2000).

Der Mechanismus disseminierten Axonabbaus scheint sich von Wallerscher Degeneration zu unterscheiden. Zum einen geht zumindest der nachgeburtliche Abbau von Motoraxonästen in Wld^S-Mäusen unverändert vonstatten (Parson et al. 1997). Zum anderen haben die meisten histologischen und ultrastrukturellen Untersuchungen junger neuromuskulärer Endplatten keine Hinweise auf das Vorliegen der charakteristischen Anzeichen von Fragmentierung oder Organellendegeneration zutage fördern können (Riley 1981). Stattdessen haben sich Anzeichen einer axonalen „Atrophie“ nachweisen lassen (Bernstein und Lichtman 1999), die dadurch gekennzeichnet ist, dass verdünnte und blind endende Axonäste auftreten, die oft am Ende eine Schwellung tragen, den *retraction bulb* („Retraktionsknolle“; ins

Deutsche übersetzt, keine glückliche Benennung, daher verwende ich im weiteren Text den Anglizismus) (Riley 1977). Ähnliche, wenn auch weniger umfassende Befunde deuten auf ein vergleichbares Szenario während der Reifung von Kletterfaser-Projektionen hin (Eckenhoff und Pysh 1979). Die morphologischen Befunde wurden lange so gedeutet, dass der *retraction bulb* eine spezialisierte Retraktionsorganelle darstellt – gewissermaßen das regressive Äquivalent des Wachstumskegels (*growth cone*). Die vorherrschende Vorstellung war, dass es in einzelnen Axonästen zu einer Umkehrung des axonalen Transportes kommt, durch die der Axonast zuerst von membranösen Strukturen evakuiert und dann resorbiert würde (Riley 1981). Allerdings hält dieses Modell keine einfache Erklärung für das Auftreten der terminalen Schwellung bereit. Im Gegenteil – den *retraction bulbs* ähnliche axonale Schwellungen (Spherioide), die bei zahlreichen Neuropathologien auftreten, werden gemeinhin als Anzeichen aufgestauten anterograden Transportes gedeutet. Tatsächlich erweist sich, dass der Axonabbau

Eye for precision.



FINE SURGICAL
INSTRUMENTS
FOR RESEARCH™

SHIPPING GLOBALLY
SINCE 1974

Request a catalog
at finescience.de
or call +49 (0) 62 21 - 90 50 50.

F · S · T®
FINE SCIENCE TOOLS

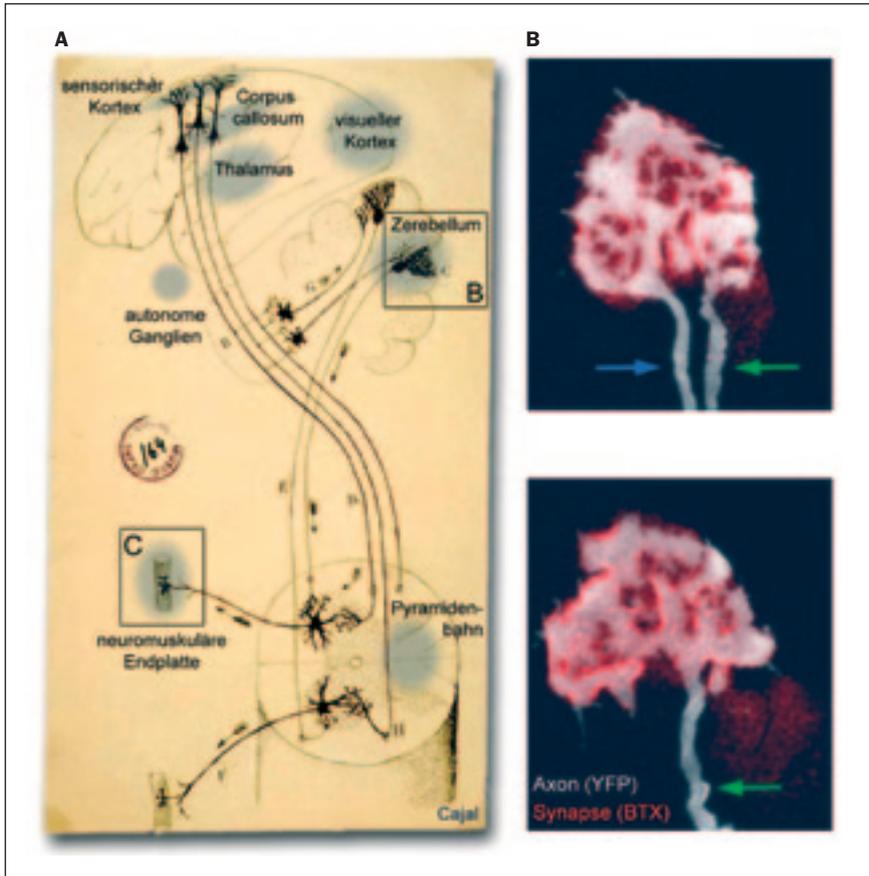


Abb. 4: Axonabbau während der Entwicklung des Nervensystems.
A) Lokalisationen von Axonabbauvorgängen während der Entwicklung, dargestellt anhand einer Übersichtszeichnung von Ramon y Cajal. B) Polyinnervation (links) und einfache Innervation (rechts) bei zwei neuromuskulären Endplatten in einem postnatalen Mausmuskel. Axone sind mit YFP (weiß) markiert, Synapsen mit BTX (rot). © A) Abdruck mit freundlicher Genehmigung der Erben Santiago Ramon y Cajals.

zumindest an der unreifen neuromuskulären Endplatte einem vom Retraktionsmodell abweichendem Mechanismus folgt (Bishop et al. 2004; Misgeld 2005).

Axosomen-Abwurf

In-vivo-Beobachtungen des Abbaus von Axonästen während der Synapsenelimination (Abbildung 4) an unreifen neuromuskulären Endplatten der Maus haben ein vom traditionellen Retraktionsmodell abweichendes Bild ergeben (Bishop et al. 2004; Walsh und Lichtman 2003). Im Mittelpunkt dieses Modells steht der distal lokalisierte Abwurf axonaler Fragmente im Bereich der *retraction bulbs* (Axosomen-Abwurf, *axosome shedding*).

Bei Geburt werden skelettale Muskelfasern von Mäusen (und Menschen) von mehreren (i.d.R. >5) Motoraxonen innerviert, wobei diese auf einer einzigen Endplatte konvergieren (Lichtman und Colman 2000). Im Verlauf der nachgeburtlichen Entwicklung

(bei der Maus während der ersten beiden postnatalen Wochen) kommt es zu einem graduellen Verlust dieser Hyperinnervation (Synapseneliminierung; *synapse elimination*). Dabei werden sequenziell einzelne synaptische Terminalien der innervierenden Motoraxone von der Endplatte verdrängt. Zu Beginn der Eliminationsphase sind die synaptischen Endverzweigungen der einzelnen Motoraxone miteinander verwoben. In einem Sortierungsprozess löst sich diese Vermischung, sodass sich gegen Ende der Synapseneliminierung eine segregierte Innervation der postsynaptischen Membran durch zwei verbleibenden Axonästen ergibt (Gan und Lichtman 1998). Im weiteren Verlauf eines der Axone, welches das Territorium seines Gegenspielers invadiert (Walsh und Lichtman 2003). Der sich in der Defensive befindende Axonast atrophiert und verliert synaptisches Areal. Dieser Prozess kann sich umkehren, führt aber im weiteren Verlauf zur

endgültigen Ablösung eines der Axonäste von der Synapse. Der unterlegene Axonast bildet einen *retraction bulb* aus und wird abgebaut. Sein siegreicher Gegenspieler hingegen übernimmt den Großteil des synaptischen Territoriums. Der gesamte Vorgang der Synapseneliminierung und des Abbaus eines Axonastes erstreckt sich über ein bis zwei Tage.

Die Frage, wie der Abbau der überzähligen Axonäste, die sich von ihren synaptischen Partnern getrennt haben, erfolgt, war lange umstritten. Zwar kamen die meisten Autoren zu der Einsicht, dass es sich aufgrund des Fehlens der typischen Anzeichen „Waller-artiger“ Degeneration wohl um einen Retraktionsvorgang handeln muss (Riley 1977), aber diese Schlussfolgerung blieb weitgehend spekulativ. Tatsächlich gab es abweichende Berichte basierend auf dem ultrastrukturellen Nachweis degenerativer Axonfragmente (Rosenthal und Taraskevich 1977). Erst die direkte Beobachtung des Axonabbaus hat diese Frage beantworten können (Bishop et al. 2004). Durch Kombination von *Thyl1-XFP*-Mäusen und *In-vivo*-Mikroskopie der neuromuskulären Endplatte bei neugeborenen Mäusen gelang es der Arbeitsgruppe von Jeff Lichtman, den Wettkampf zweier farblich differenzierter Motoraxone um die Innervation einer neuromuskulären Synapsen zu verfolgen (Keller-Peck et al. 2001; Walsh und Lichtman 2003). Dabei stellte sich heraus, dass der Abbau des unterlegenen Axons Charakteristika sowohl eines degenerativen Zerfalls als auch einer retraktiven Resorption aufweist. Zeitlich und räumlich hoch aufgelöste Bildgebung konnten dann zeigen, wie sich dieser scheinbare Widerspruch auflösen lässt: Unterlegene Axonäste verkürzen sich, indem sie im Bereich der *retraction bulbs* axonale Fragmente („Axosomen“; *axosomes*) abwerfen (Abbildung 5A, D). Diese sind von einer Membran umgeben und enthalten synaptische Organellen, einschließlich Mitochondrien und synaptischer Vesikel. Die Größe dieser Fragmente variiert von einigen Mikrometern bis zu wenigen hundert Nanometern, also unterhalb der lichtmikroskopischen Auflösungsgrenze. Der Abwurf der Axosomen erfolgt nicht in den interstitiellen Raum, denn alle *retraction bulbs* sind von Schwannschen Zellen umgeben (Bishop et al. 2004; Song et al. 2008). Diese umschließen Axosomen und verdauen sie über einen lysosomalen Verdauungsweg, der Ähnlichkeiten mit dem autophagischen Abbauweg aufweist. Auf diese Weise verkürzt sich der Axonast graduell, bis es den Ranvierschen Schnürring seines Ursprungs erreicht und damit spurlos abgebaut wird. Ähnliche Phänomene des lokalen Abwurfes axonaler Fragmente finden

sich auch in anderen Teilen des Nervensystems, die ähnliche Phasen des Axonabbaus unterlaufen (z.B. im Zerebellum, Eckenhoff und Pysh 1979), und an den Synapsen anderer Spezies (z.B. der Tauffliege, Fuentes-Medel et al. 2009). Ebenso scheint der Austausch von Material zwischen Axonen und Gliazellen kein isoliertes Phänomen der unreifen neuromuskulären Endplatte zu sein (Court et al. 2008; Lauterbach und Klein 2006). Dennoch ist bisher ungewiss, ob der Mechanismus des Axosomen-Abwurfs (*axosome shedding*) tatsächlich außerhalb der neuromuskulären Endplatte existiert – sei es in der Entwicklung oder bei neurologischen Erkrankungen. Direkte Evidenz dafür konnte bei Untersuchungen des stereotypischen Axonabbaus im Hippocampus nicht gefunden werden (Liu et al. 2005). Ebenso erbrachten Untersuchung der Axonentwicklung im zerebralen Kortex mittels *In-vivo*-Multiphotonen-Mikroskopie eher Hinweise für lokale Degeneration und Retraktion, aber nicht für den Abwurf Axosomen-artiger Strukturen (Portera-Cailliau et al. 2005). Allerdings ist zu beachten, dass die Auflösung, die in diesen Studien erreicht

wurde, nicht unbedingt geeignet ist, den Abwurf von Axosomen sicher nachzuweisen.

Die Frage nach der Generalität des Axosomen-Abwurfs ist nicht die einzige offene Frage: Beispielsweise ist ungeklärt, ob die an Motoraxonen zu beobachtende Verkürzung vollständig durch den Abwurf von Axosomen erklärt werden kann, oder ob parallel ein Element echter Retraktion (einschließlich Umkehrung des axonalen Transports, wie er bei der Tauffliege postuliert wurde, Liu et al. 2010) nachweisbar ist. Ebenso ist unklar, ob Schwannsche Zellen lediglich eine passive Rolle bei der Entstehung von Axosomen spielen, oder ob sie aktiv beteiligt sind. Auch ist das Schicksal der Schwannschen Zellen, die ein unterlegenes Axon umgeben, ungeklärt. Zwar sind unreife Schwannsche Zellen für ihr Überleben auf axonale Signale angewiesen (Trachtenberg und Thompson 1996), aber ob dies zum Absterben der überflüssig gewordenen Schwannschen Zellen eines langsam zerfallenden Axonastes führt, ist offen. Zuletzt bleibt die Frage nach den molekularen Signalwegen, die den Abwurf von Axosomen ermöglichen und regulieren.

Es handelt sich hier um ein bemerkenswert lokales Phänomen, das innerhalb einer Axonprojektion asynchron abläuft. Ein Ast eines Motoraxons kann Axosomen abwerfen und absorbiert werden, während zugleich der unmittelbare Nachbarast eine völlig normale Synapse erhält (Keller-Peck et al. 2001). Die Beantwortung der Frage nach den molekularen Signalwegen stellt daher eine große Herausforderung dar. Die klassischen transkriptomischen oder proteomischen Herangehensweisen sind nicht leicht auf derartig lokale und asynchrone Phänomene anwendbar, und zumindest wirbellose Modellorganismen scheinen keine vergleichbaren Formen des Axonabbaus aufzuweisen.

Akute axonale Degeneration

Dass axonaler Abbau während der Entwicklung lokal beschränkt werden kann wirft die interessante Frage auf, welche Mechanismen innerhalb von Axonen zur Verfügung stehen, um katabole Ereignisse zu kompartimentalisieren. Ein Modell, um dieser Frage im pathologischen Kontext nachzugehen, liefert

Leadership

International research and engineering teams guarantee creativity and precision for HEKA instruments and software.

www.heka.com

HEKA Elektronik
Dr. Schulze GmbH
Wiesenstraße 71
D-67466 Lambrecht/Pfalz
Germany
phone +49 (0) 63 25 / 95 53-0
fax +49 (0) 63 25 / 95 53-50
eMail sales@heka.com

HEKA Electronics Inc.
47 Keddy Bridge Road
R.R. #2
Mahone Bay, NS B0J 2E0
Canada
phone +1 902 624 0606
fax +1 902 624 0310
eMail nasales@heka.com

HEKA Instruments Inc.
2128 Bellmore Avenue
Bellmore, New York 11710-5606
USA
phone +1 516 882 1155
fax +1 516 467 3125
eMail ussales@heka.com



HEKA provides the finest instruments today to achieve the needed progress of tomorrow...

- patch clamp amplifiers
- multi-channel stimulation/ acquisition patch clamp systems
- potentiostats/galvanostats
- acquisition interfaces
- software for acquisition and analysis
- pipette pullers
- micromanipulators
- complete patch clamp set-ups
- scanning electrochemical microscopes

HEKA

Electrophysiology

Electrochemistry

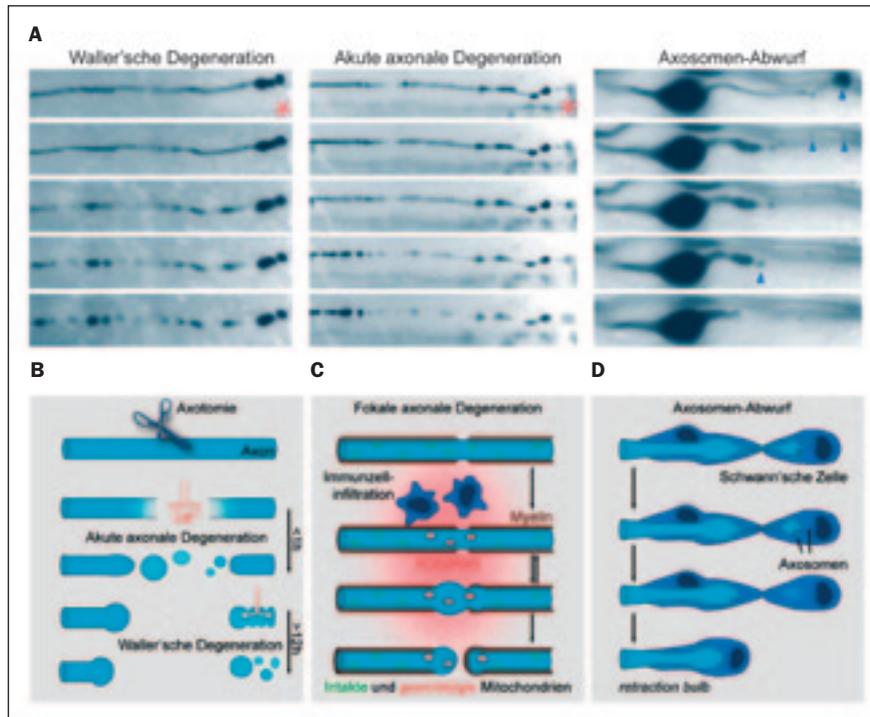


Abb. 5: Formen des Axonabbaus.

A) Zeitrafferaufnahmen von verschiedenen Formen des Axonabbaus in *Thy1-XFP*-Mäusen. Links, Wallersche Degeneration im Rückenmark einer lebenden Maus, ca. 34 Stunden nach Axotomie (Zeitraum zwischen Bildern 2-11 Minuten). Mitte, akute axonale Degeneration im Rückenmark einer lebenden Maus, ca. 3-38 Minuten nach Axotomie. Rechts, Axosomen-Abwurf an der Spitze eines Motoraxonastes in einem akuten Nerv-Muskel-Explantat (Zeitraum zwischen Bildern 5-25 Minuten). Bilder modifiziert nach (Bishop et al. 2004; Kerschensteiner et al. 2005) **B)** Modell des post-traumatischen Axonabbaus durch akute axonale Degeneration und Wallersche Degeneration. Die Axotomie erlaubt den Einstrom von Kalzium, der zur lokalen Axondegeneration führt. Im weiteren Verlauf kommt es zu einem sekundären Kalziumeinström im distalen Axonfragment, welches durch Wallersche Degeneration abgebaut wird. **C)** Modell der fokalen axonalen Degeneration. Immunzellen (v.a. Makrophagen) produzieren reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies (ROS/RNS), die Mitochondrien in myelinisierten Axonen schädigen und zur Axondurchtrennung führen. **D)** Modell des Axosomen-Abwurfes. Axosomen werden von Schwannschen Zellen aufgenommen und verdaut.

die sogenannte „akute axonale Degeneration“ (*acute axonal degeneration*), die Martin Kerschensteiner und ich als lokale Form der axonalen Degeneration bei der Maus beschrieben haben (Kerschensteiner et al. 2005). Wenn Axone im Rückenmark durchtrennt werden, dann kommt es einerseits im distalen Axonabschnitt nach ein bis zwei Tagen zur Wallerschen Degeneration (siehe oben). Allerdings finden sich auch distal der Läsion sekundäre Axonabbauvorgänge. Dieser Vorgang, der als axonales „Rücksterben“ (*axonal die-back*) lange bekannt ist, führt zu einer Verkürzung des proximalen Axonendes, an dessen Spitze sich eine lokale Schwellung ausbilden kann. In Analogie mit den *retraction bulbs* der Entwicklungsbiologie ist eine vorherrschende Interpretation, dass es sich auch hier um axonale Strukturen handelt, die sich langsam durch das Gewebe zurückzie-

hen. Direkte *In-vivo*-Beobachtungen bestätigten diese Annahme teilweise, zeigten aber ein deutlich komplexeres Bild (Abbildung 5A, B); (Kerschensteiner et al. 2005; Misgeld et al. 2007b): Nach Durchtrennung eines Axons folgt eine kurze Verzögerungsphase von 15 bis 30 Minuten (dieser Wert gilt für dicke Axone im Rückenmark; im optischen Nerv ist diese Phase länger) (Knöferle et al. 2010), nach der es zu einer lokalen Fragmentierung der Spitzen beider, d.h. proximaler und distaler Axonsegmente kommt. Diese Fragmentierung erfolgt ähnlich schnell wie die Fragmentierung des distalen Fragmentes während der Wallerschen Degeneration ein bis zwei Tage später. Allerdings kommt die Fragmentierung beiderseits nach einigen hundert Mikrometern zum Erliegen. Die Axonenden bilden dann meist graduell Schwellungen aus, die sich tatsächlich lang-

sam durch das Gewebe zurückziehen können – dies aber meist nur für weniger als hundert Mikrometer tun. Dieser Zustand scheint dann meist für die nächsten 24 Stunden stabil zu sein, woraufhin distal Wallersche Degeneration einsetzt und es proximal zum lokalen Auswachsen des Axons kommen kann. Dieses Auswachsen wird in der Umgebung des zentralen Nervensystems unter normalen Bedingungen schnell unterdrückt.

Untersuchungen an *Wld^S*-Mäusen bestätigten, dass der *Wld^S*-Mechanismus auch die Fragmentierungsphase der akuten axonalen Degeneration vermittelt (Kerschensteiner et al. 2005). Es handelt sich also um eine lokale Variante des Waller-artigen Prozesses, die allerdings eine ganz andere räumliche und zeitliche Ausprägung als die eigentliche Wallersche Degeneration hat. Eine Hypothese zur Erklärung dieser räumlichen und zeitlichen Charakteristika ist der Einstrom von Kalzium in das lädierte Axon und die Aktivierung kalziumabhängiger Proteasen (z.B. Calpain), die lokal das Zytoskelett angreifen und zur Fragmentierung führen (Abbildung 5A, B). In diesem Modell erklären die spontane Versiegelung der Axonspitze und intraaxonale Kalzium-Pufferung die räumliche Beschränkung. Tatsächlich blockieren Calpain-Inhibitoren die spontane Fragmentierung (Kerschensteiner et al. 2005). Auch hat die Arbeitsgruppe von Paul Lingor nachweisen können (Knöferle et al. 2010), dass die akute axonale Degeneration der Axone retinaler Ganglienzellen (der Ratte) mit einem lokalen Kalziumeinström einhergeht, dessen Blockade zu einer Verringerung des Axonverlustes führt. Allerdings konnte diese Arbeitsgruppe auch nachweisen, dass es außerdem zu einer Aktivierung autophagischer Mechanismen kommt, was darauf hindeutet, dass die genauen Mechanismen der akuten axonalen Degeneration komplexer sind als ursprünglich angenommen. Auch konnten Frank Bradke und Kollegen zeigen (Ertürk et al. 2007), dass die Stabilisierung des mikrotubulären Zytoskeletts zu einer Verringerung des Axonverlustes um eine Rückenmarksverletzung herum führt. Ob dies durch eine Hemmung der Fragmentierung, der Retraktion oder durch eine Förderung des Auswachsens – oder eine Kombination solcher Faktoren – bedingt ist, muss noch endgültig geklärt werden. Dabei könnte es von Nutzen sein, dass akute axonale Degeneration nicht nur im zentralen Nervensystem auftritt, sondern auch in der Peripherie, z.B. an der neuromuskulären Synapse (M. Brill und T. Misgeld, unpublizierte Beobachtung).

Die akute axonale Degeneration stellt ein interessantes Modell des post-traumatischen Axonverlustes dar. Mit der Wallerschen De-

generation teilt dieses Phänomen allerdings die Einschränkung, dass es aus klinisch-neurologischer Sicht wahrscheinlich zumindest für Durchtrennungsverletzungen des Nervensystems nicht von großer Bedeutung ist. Schließlich führt die Durchtrennung bereits dazu, dass das gesamte distale Axonfragment seine Funktion verliert. Der zusätzliche Verlust einiger hundert Mikrometer proximal der Läsion könnte zwar in bestimmten anatomische Lokalisationen (z.B. in Axonen des Hinterstrangs im Rückenmark, die regelmäßig Kollaterale abgeben) zum sekundären Verlust einiger Seitenäste führen; in anderen Lokalisationen (z.B. im optischen Nerven) ist hingegen keine sekundäre Ausweitung der Denervierung zu erwarten. Allerdings scheint es denkbar, dass der Abstand zur Läsion, von dem aus Axone ihre Regenerationsbemühungen beginnen, durchaus eine wichtige Rolle beim Erfolg der Regeneration spielt. Je weiter dieser Abstand ist – und akute axonale Degeneration vergrößert ihn –, desto mehr Zeit vergeht, bevor Axone in den Verletzungsbereich einwachsen können. Dies bestimmt die Zusammensetzung der wachstumshemmenden Narbe, mit der auswachsende Axone konfrontiert sind.

Es gibt lokale Formen des Axonabbaus nicht nur nach traumatischen Pathologien. Disseminierte Erkrankungen des Nervensystems, wie beispielsweise die Multiple Sklerose, führen dazu, dass es zur schleichenden Ausdünnung von Axonen in vielen Bereichen des Nervensystems kommt (Siffrin et al. 2010b). Dieser Axonverlust spielt eine wichtige Rolle für das Ausmaß der chronischen Behinderung von Patienten mit Multipler Sklerose. Es ist daher von großem Interesse, zu verstehen, welche Formen von Axonabbau durch die Entzündung des Zentralnervensystems ausgelöst werden können.

Fokale axonale Degeneration

Angesichts des multi-phasischen Ablaufes der Multiplen Sklerose erscheint es wahrscheinlich, dass mehrere Mechanismen der Axonschädigung parallel ablaufen. Ein breites Spektrum an möglichen Pathomechanismen ist für die Axonschädigung bei der Multiplen Sklerose vorgeschlagen worden (Coleman et al. 2005; Siffrin et al. 2010b), die von einer atrophischen Reaktion von Axonen auf chronischen Demyelinisierung (Trapp und Stys 2009), über Transportstörungen (Stagi et al. 2005) oder ionische Dyshomeostase durch Kanalverteilung (Waxman 2006), bis hin zum energetischen Versagen durch mitochondriale Schädigung reichen (Mahad et al. 2008). Auch existieren Belege für eine direkte zytotoxische Attacke von Immunzellen auf Nervenzellen *in vitro* (Medana et al. 2001) und *in vivo* (Siffrin et al. 2010a). Allerdings war es lange nicht möglich, die Interaktion von Immunzellen und Axonen direkt *in vivo* zu beobachten – und sei es nur im Tiermodell der Multiplen Sklerose, der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE). Erst in den letzten Jahren haben Studien verschiedener Arbeitsgruppen Immunzellen im Rückenmark und Hirnstamm der direkten *In-vivo*-Beobachtung zugänglich gemacht (Bartholomäus et al. 2009; Siffrin et al. 2010a; Vajkoczy et al. 2001). In Kombination mit dem oben beschriebenen *In-vivo*-Imaging-Ansatz zur Darstellung transgen markierter Axone, ist es nun möglich, den Ablauf inflammatorisch bedingter axonaler Schädigung direkt zu beobachten.

In Fortsetzung der Kollaboration zwischen der Arbeitsgruppe von Martin Kerschensteiner und meinem Labor konnte jüngst eine neue Form des Axonabbaus beschrieben werden, die zum Verlust von Axonen bei der EAE – und möglicherweise auch bei der Multiplen Sklerose – führt (Abbildung 5C) (Nikic et al. 2011). Diese Form der fokalen axonalen Degeneration (*focal*

axonal degeneration) führt zur lokalen Durchtrennung einzelner Axone in inflammatorischen Läsionen im Rückenmark. Ein bemerkenswerter Aspekt dieses Degenerationsvorganges ist das Vorliegen einer längerfristig stabilen Vorschädigung in Form der lokalen Anschwellung von Axonen, die ihre Kontinuität noch bewahren. Wiederholte Beobachtung desselben Axons über mehrere Tage zeigte, dass geschwollene Axone oftmals für mehrere Tage persistierten – und dann entweder fragmentierten, oder aber sich spontan erholten. Korrelierte ultrastrukturelle Untersuchungen zeigten dann, dass geschwollene Axone in den meisten Fällen noch eine intakte Myelinscheide aufweisen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass es sich bei der Axonschädigung weniger um die Folge einer direkten Interaktion von Immunzellen und Axonen handelt, sondern dass es möglicherweise membrangängige Mediatoren gibt, die die Schädigung vermitteln. Ein frühes Schädigungskennzeichen ist das Vorhandensein geschwollener und funktionell gestörter Mitochondrien in Axonen, die in einem von Makrophagen dominierten Milieu persistieren. Untersuchungen an transgenen Mäusen mit fluoreszenzmarkierten axonalen Mitochondrien (Misgeld et al. 2007a) bestätigte, dass diese Mitochondrienschädigung anderen morphologischen Anzeichen der axonalen Dysfunktion vorausgehen. Da reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies in entzündlichen Läsionen von Makrophagen in großen Mengen produziert werden, erscheint unter diesen Umständen Radikalschädigung als ein plausibler Mechanismus der Axonschädigung (Lin und Beal 2006; Smith und Lassmann 2002). Tatsächlich kann die direkte Applikation von reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies auf das gesunde Rückenmark

World Precision Instruments

Stereotaxics Analgesia
Behaviour
Electrophysiology
Anaesthesia Blood Pressure
Optogenetics

Neuroscience Solutions from
World Precision Instruments

Product Focus

OPTOGENETICS is a scientific method that enables control of targeted cell functions using light stimulation and genetically encoded light-sensitive proteins. WPI offers complete Turn-key solutions, this can include the supply of stereotaxic, anaesthesia and microinjection equipment together with appropriate light sources, fibre optic cannulas and fibre optic coupling.

for more information please visit
www.wpi-europe.com/optogenetics

World Precision Instruments Germany GmbH Zossener Str. 55 D-10961 Berlin, Germany
Tel +49 (0)30 6188845 Fax +49 (0)30 6188670 E-mail wpi@wpi-europe.com



ckenmark eine mitochondriale Schädigung und in der Folge eine axonale Degeneration auslösen. Die Blockade endogener reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies bei der EAE im Gegenzug bewahrt die Mehrzahl der geschwollenen Axone vor der drohenden Fragmentierung.

Es handelt sich bei der frühen Mitochondrienschädigung nicht um ein nur im Tiermodell nachweisbares Phänomen. Frühere Untersuchungen (Mahad et al. 2008) und unsere Studie konnten bestätigen, dass auch in histologischen Präparaten von Patienten mit Multipler Sklerose geschädigte Mitochon-

drien in anderweitig normal erscheinenden Axonen vorliegen. Wir konnten außerdem nachweisen, dass viele dieser Axone noch von einer Myelinscheide umgeben sind. Es wird nun eine große Herausforderung sein, die genauen Mechanismen herauszuarbeiten, die reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies mit mitochondrialer Schädigung und folgender Axondegeneration verbinden. Allerdings wird für eine derartige Analyse das Zusammenwirken von Wissenschaftlern aus vielen verschiedenen Bereichen (Neurowissenschaften, Immunologie, Proteomanalyse etc.) von zentraler Bedeutung sein.

Ausblick: Axonverlust aus systemneurologischer Sicht

Mikroskopische Untersuchungen an lebenden Tieren haben es in den vergangenen Jahren ermöglicht, zahlreiche Einsichten in die Phänomenologie und die zellulären Mechanismen des Axonabbaus zu gewinnen. Dabei ist offenbar geworden, dass der Axonabbau Querverbindungen in zahlreiche Bereiche der Zellbiologie und Neurowissenschaften aufweist. So spielen beim Axonabbau sowohl intrinsische Vorgänge innerhalb des Axons (z.B. Organellenveränderungen, axonaler Transport) eine wichtige Rolle, aber ebenso äußere Einflüsse, wie Axon-Glia- oder Axon-Immunzell-Interaktionen. In einigen Bereichen weisen Axonabbauphänomene Parallelen mit bekannten regressiven Phänomenen auf (Abbildung 6). Beispielsweise ähneln Axosomen den *apoptotic bodies*, die von Zellen abgeworfen werden, wenn diese einen programmierten Zelltod durchlaufen. In diesem Fall – wie im Fall der Axosomen – nehmen umgebende Zellen die freiwerdenden Zelldebris auf (Kinchen und Ravichandran 2007). Daten aus Invertebraten-Modellen deuten darauf hin, dass in beiden Fällen ähnlich Rezeptor-Liganden-Paare an der Identifikation und der Aufnahme der freigesetzten Partikel beteiligt sind (Awasaki et al. 2006; MacDonald et al. 2006). Diese molekulare Parallele erstreckt sich möglicherweise auch auf frühere Schritte des Prozesses. So scheint es, dass Caspasen, die im apoptotischen Signalweg eine zentrale Rolle spielen, auch an bestimmten Abbauvorgängen von Nervenzellfortsätzen beteiligt sind. Beispielsweise basiert die spontane Durchtrennung von bestimmten Dendriten während der larvalen Entwicklung der Taufliège auf lokaler Caspase-Aktivierung (Williams et al. 2006). Ebenso kommt es nach lokaler Neurotrophin-Deprivation in kompartimentalisierten Nervenzellkulturen zu Caspase-vermittelter Axonfragmentation (Nikolaev et al. 2009; Schoenmann et al. 2010). Zusammen mit den beschriebenen Hinweisen zum Mechanismus der Wallerschen Degeneration, die aus dem WLD^S-Phänotypen abgeleitet werden können, bieten diese Einsichten erste Ansatzpunkte für eine molekulare Analyse.

Die Tatsache, dass Axonabbau auch mit Phänomenen in Verbindung steht, die bei einer auf plausiblen Kandidaten beruhenden Vorgehensweise nicht unbedingt ins Visier der Analyse geraten würde, wird durch Ergebnisse von in den letzten Jahren durchgeführt molekularen screens für beteiligte Signalwege unterstrichen. So hat die Arbeitsgruppe von Carla Shatz nachweisen können,

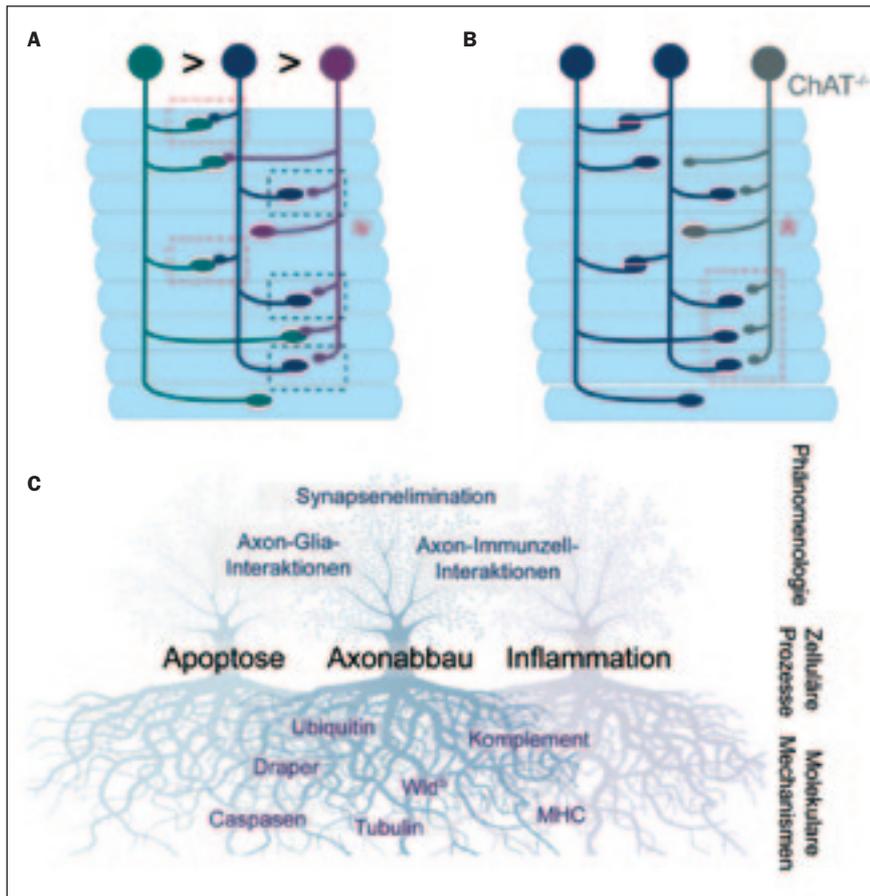


Abb. 6: Eine systemische Sicht des Axonabbaus.

A-B) Übergeordnete Prinzipien des Axonabbaus an der unreifen neuromuskulären Endplatte. A) Im Wettstreit zweier Motoraxone gibt es zu jedem Zeitpunkt einen überlegenen Wettstreiter (Kasthuri und Lichtman 2003). Beispielsweise ist das grüne Motorneuron „stärker“ als das blaue (Wettkämpfe in roten Rechtecken), welches wiederum stärker ist als das violette (Wettkämpfe in grauen Rechtecken). Dennoch hat das schwächste Neuron in der Vergangenheit Wettkämpfe gewonnen (siehe mit Stern markierte Synapse). B) Motorneurone mit reduzierter Neurotransmitterfreisetzung (ChAT^{-/-}) verlieren alle Wettkämpfe mit aktiven Gegnern – können aber Wettkämpfe gegen andere künstlich geschwächte Gegner gewinnen (dies erklärt die erhaltene Synapse, die mit einem Stern markiert ist) (Buffelli et al. 2003). C) Konzeptionelle Darstellung der Verbindung zwischen Axonabbau und verwandten zellulären Prozessen, wie Apoptose oder Inflammation, aus systemneurologischer Sicht. Die Stämme der Bäume repräsentieren die getrennt erscheinenden zellulären Phänomene. Im „Wurzelwerk“ der beteiligten Moleküle gibt es allerdings unerwartete Überlappungen, wie auch auf der übergeordneten Ebene der Phänomenologie.

das Moleküle des *major histocompatibility complex* (MHC) an der Ausbildung reifer Vernetzungsmuster im Zentralnervensystem beteiligt sind (Datwani et al. 2009; Huh et al. 2000). Dabei scheinen MHC-Moleküle eine Rolle bei der Erkennung oder beim Abbau anatomisch inkorrekt projektierten Axone zu spielen. Ähnlich konnte Ben Barres Labor zeigen, dass Moleküle der Komplementkaskade eine Rolle bei der Markierung und folgenden Elimination von Synapsen spielt (Stevens et al. 2007). Die Beteiligung klassischer „Immunmoleküle“ in der Ausbildung neuronaler Konnektivität zeigt, dass die molekularen Akteure des Axonabbaus über die einfach vorhersagbaren Kandidaten – *the usual suspects* – hinausgehen. Daher erscheint es wünschenswert, dass zunehmend systembiologisch inspirierte Ansätze gewählt werden, die es ermöglichen, ohne Vorauswahl beteiligte Signalwege zu identifizieren und komplexen multi-faktoriellen Interaktionen Rechnung zu tragen. Allerdings sind derartige Strategien im Bereich des Axonabbaus nicht einfach zu entwerfen: Die auch innerhalb einzelner Zellen nur lokal und zumeist ohne direkte Beteiligung der transkriptionellen Maschinerie des Zellkörpers auftretenden Abbauvorgänge lassen sich mit den klassischen Methoden der Transkriptom- und Proteomanalyse nicht leicht analysieren.

Ein großer Vorteil ist hier der Einsatz von genetisch zugänglichen Modellorganismen. Speziell für die Wallersche Degeneration ist es gelungen zu demonstrieren, dass ähnliche post-traumatische Abbauvorgänge auch nach Axotomien in der Tauffliege auftreten (MacDonald et al. 2006). Ebenso weisen Tauffliegen als Insekten, die eine Metamorphose durchlaufen, drastische Veränderungen des Bauplanes ihres Nervensystems auf, die teilweise durch stereotypische Axonabbauvorgänge vermittelt werden (Luo und O'Leary 2005). Selbst bei Fadenwürmern gibt es ein axonales Degenerationsprogramm nach Durchtrennung (die aufgrund der geringen Größe des Tieres nur mittels Zwei-Photonen-Laseraxotomie möglich ist) (Yanik et al. 2004); ebenso bauen Fadenwürmer in vorhersagbarer Weise bestimmte Synapsen ab (Ding et al. 2007). Anhand dieser Modellorganismen ist es gelungen, klare Parallelen zu Axonabbauerscheinungen beim Säuger nachzuweisen (z.B. den frühen Verlust von Mikrotubuli oder die Beteiligung von Gliazellen beim physiologischen Axonabbau, Awasaki und Ito 2004; Watts et al. 2004, aber auch, neue Signalwege zu entdecken, Ding et al. 2007). Ein Problem bleibt die Tatsache, dass das weit einfachere Nervensystem der Invertebraten nicht für alle Axonabbauvor-

gänge gute Analogien aufweist. Wohl gibt es stereotype Axonabbauvorgänge, aber dissoziierte, kompetitive Formen der Synapsenelimination fehlen weitgehend – vielleicht weil evolutionär Präzision gegenüber Plastizität selektioniert wurde (Lichtman und Colman 2000). Die bei der Tauffliege oder beim Fadenwurm beschriebenen Formen der Synapsenelimination unterscheiden sich in wesentlichen Aspekten von der Synapsenelimination im Nervensystem der Wirbeltiere. Es ist zu hoffen, dass nähere Untersuchung an Vertebraten-Modellorganismen, wie am Zebrafisch, zur Entdeckung lokaler Axonabbau-Vorgänge führen wird, die dann mittels molekulare und mikroskopischer Verfahren im Detail untersucht werden können.

Eine andere Art der systemorientierten Betrachtungsweise des Axonabbaus führt weg von der molekularen Ebene und hin zu den Systemneurowissenschaften – speziell für Formen des physiologischen und kompetitiven Axonabbaus: Welches sind die übergeordneten Prinzipien, die innerhalb von Nervenzellen bestimmen, welche Axonäste abgebaut, und welche erhalten werden? Hat der Abbau einzelner Äste Auswirkungen auf das Schicksal der verbleibenden? Und welche Funktionen des Nervensystems werden durch den Axonabbau und die Synapsenelimination geprägt? Diese Fragen rücken ab von einer Betrachtung einzelner Nervenzellen und ihrer glialen Interaktionspartner, hin zur Ebene des Verschaltungsplanes und der übergeordneten Spielregeln der kompetitiven Interaktionen, die den destruktiven Ausgang zellulärer Kompetitionen bestimmen. Bisher haben nur wenige Studien diesen Punkt genauer beleuchtet. Zwar ist schon in den klassischen Untersuchungen von Hubel und Wiesel auf die entscheidende Rolle neuronaler Aktivität hingewiesen worden (Hubel und Wiesel 1977). Für die axonale Konkurrenz und den resultierenden Axonabbau im unreifen Skelettmuskel (Brown et al. 1976; Buffelli et al. 2004; Lichtman und Colman 2000; Riley 1978; Wyatt und Balice-Gordon 2003) und Zerebellum (Kano und Hashimoto 2009; Lorenzetto et al. 2009) ist dies auch klar bestätigt worden. Die genauen Plastizitätsregeln allerdings, die den Ausgang der Konkurrenz bestimmen, bleiben unklar. Zwar ist lange bekannt, dass die globale Absenkung oder Erhöhung der Aktivität in Motoneuronen dazu führt, dass die Synapsenelimination verlangsamt, bzw. beschleunigt wird (Buffelli et al. 2004; Wyatt und Balice-Gordon 2003). Erst vor einigen Jahren jedoch gelang es Joshua Sanes und Kollegen, mittels Deletion des Cholinazetyltransferase-Gens in einzelnen Motoneuronen (Buffelli et al.

2003), basierend auf einer konditionalen Mausmutante (Misgeld et al. 2002), nachzuweisen, dass einzelne Motoneurone mit reduzierter Fähigkeit zur Neurotransmission einen kompetitiven Nachteil gegenüber ihren normal aktiven Wettstreitern haben (Abbildung 6A). Wie sich derartige Unterschiede in der kompetitiven Stärke auf globaler Ebene auswirken, konnte parallel von der Arbeitsgruppe von Jeff Lichtman gezeigt werden (Kasthuri und Lichtman 2003): Wenn ein Ast eines Motoneurons an einer Synapse gegen einen Ast eines anderen Neurons gewinnt, so gewinnen andere Äste desselben Neurons stets alle anderen Wettkämpfe gegen Äste desselben Gegners, selbst wenn sich diese Kompetitionen in deutlicher Entfernung innerhalb der axonalen Projektion abspielen (Abbildung 6B). Angesichts der Tatsache, dass eine derartige Regel eine klare kompetitive Hierarchie innerhalb des motorischen *pools* eines Muskels vorhersagt, scheint es notwendig, dass eine derartige Hierarchie dynamisch ist, da vermutliche kein Motoneuron alle seine Kompetitionen gewinnt (die resultierende motorische Einheit wäre zu groß und läge außerhalb der zu beobachtenden Verteilung im reifen Muskel). Es ist also möglicherweise zusätzlich ein beschränkendes Element wirksam, eine limitierende Ressource, die die Gesamtstärke eines Motoneurons in allen seinen synaptischen Wettkämpfen bestimmt (Barber und Lichtman 1999; Kasthuri und Lichtman 2003). Die Hoffnung, derartige übergeordnete Regeln untersuchen zu können, hat die Erzeugung neuartiger Mausstämmen motiviert, z.B. der *brainbow* Mäuse (Livet et al. 2007), mit denen der Wettkampf zahlreicher Axone parallel untersucht werden kann, oder der MitoMäusen (Misgeld et al. 2007a), in denen die Umverteilung intrazellulärer Ressourcen mittels axonaler Transportes gemessen werden kann. Mit der Entwicklung zusätzlicher neuer Technologien, die es erlauben, ganze Netzwerke ultrastrukturell und immunhistochemisch zu charakterisieren (*connectomics*) (Bock et al. 2011; Briggman et al. 2011; Kasthuri und Lichtman 2007; Micheva et al. 2010; Micheva und Smith 2007; Mishchenko et al. 2010), erscheint es wahrscheinlich, dass demnächst neue Einsichten in das Regelwerk zu erwarten sind, nach dem Nervenzellen um den Erhalt ihrer Axone und Synapsen kämpfen. Mit der Möglichkeit, auf derartig großflächige Verschaltungskarten einzelne molekulare, physiologische oder dynamische Charakteristika zu projizieren, sollte es in Zukunft gelingen, die Vorgänge des Axonabbaus und der Synapsenelimination quasi aus der Vogelperspektive – aus systemneurologischer



Sicht (Villoslada et al. 2009) – zu betrachten und unerwartete Zusammenhänge zu erkennen (Abbildung 6C).

Literatur

- Coleman, M.P. und Freeman, M.R. (2010): Wallerian degeneration, wld(s), and nmnat. *Annu. Rev. Neurosci.* 33: 245-267.
- Kerschensteiner, M., Schwab, M.E., Lichtman, J.W. und Misgeld, T. (2005): In vivo imaging of axonal degeneration and regeneration in the injured spinal cord. *Nat. Med.* 11: 572-577.
- Misgeld, T. und Kerschensteiner, M. (2006): In vivo imaging of the diseased nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 7: 449-463.
- Nikic, I., Merkler, D., Sorabara, C., Brinkoetter, M., Kreuzfeldt, M., Bareyre, F.M., Brück, W., Bishop, D.L., Misgeld, T. (*) und Kerschensteiner, M. (*) (2011): A reversible form of axon damage in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Nat. Med.* XX (*co senior authorship)
- Vanderhaeghen, P. und Cheng, H.J. (2010): Guidance molecules in axon pruning and cell death. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2: a001859

Eine vollständige Literaturliste kann beim Autor angefordert werden.

Danksagung

Ich möchte mich bei Prof. Martin Kerschensteiner (LMU München) für die langjährige Zusammenarbeit zum Thema „Axonabbau“ bedanken. Weiterhin gilt mein herzlicher Dank Herrn Prof. Arthur Konnerth (TU München), der meine Nachwuchsgruppe in seinem Institut willkommen geheißen und mit allen Mitteln unterstützt hat. Dank auch den Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe für ihr Engagement und fruchtbare Diskussionen, und besonders Frau Sarah Bechtold, Frau Manuela Budak, Frau Yvonne Hufnagel und Frau Kristina Wullimann für ihre Hilfe im administrativen und technischen Bereich. Die Arbeit in meinem Labor wird finanziert aus der Exzellenzinitiative des Bundes und der Länder (als Teil des „Center for Integrated Protein Science, Munich“),

von der DFG (im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 596), vom Institute for Advanced Study der Technischen Universität München, der Alexander-von-Humboldt-Stiftung, dem Bundesministerium für Bildung und Forschung, der Hertie-Stiftung, der Dana-Stiftung und der „Christopher and Dana Reeve Foundation“.

Korrespondenzadresse

Prof. Thomas Misgeld
 Technische Universität München
 Lehrstuhl für Biomolekulare Sensoren
 Institut für Neurowissenschaften
 Center for Integrated Protein Science (CIPSM) und TUM Institute for Advanced Study
 Biedersteiner Str. 29
 80802 München
 Tel.: +49 89 4140 3512
 Fax: +49 89 4140 3352
 E-Mail: thomas.misgeld@lrz.tum.de

Die Neurowissenschaftliche Gesellschaft heißt ihr erstes Ehrenmitglied willkommen



Auf der Göttinger Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft stimmte die Mitgliederversammlung zu, die erste Ehrenmitgliedschaft der Gesellschaft an Dr. Armin Schram zu verleihen. Die Verleihung fand im Rahmen eines Hauptvortrages statt.

Dr. Armin Schram wurde 1929 in Österreich geboren. Nach einem Chemie-Studium wurde er 1953 Mitarbeiter der Deutschen Erdöl-AG, die 1970 Tochtergesellschaft der amerikanischen Texaco wurde und bei der Armin Schram 1979 den Vorstandsvorsitz übernahm. Bis zum Ende seiner beruflichen Laufbahn im Jahr 1993 war er Vorstandsvorsitzender der RWE Dea AG.

Armin Schram ist fasziniert von der Komplexität und den Leistungen des menschlichen Gehirns, was ihn zur Gründung einer Stiftung zur Förderung neurobiologischer Grundlagenforschung bewegte. Im Jahr 2000 gründete er die im Deutschen Stiftungszentrum verwaltete Schram-Stiftung mit einem Stiftungsvermögen von rund 8.1 Millionen Euro. Im Fokus seiner Stiftung steht ein Verständnis der molekularen Vorgänge im Gehirn, dem komplexesten Organ von Lebewesen. Bisher wurden 11 Forschungsvorhaben



mit insgesamt 1.123.000 Euro gefördert, das jährliche Fördervolumen liegt bei ungefähr 400.000 Euro. Schwerpunkt der Förderung sind Projekte, die sich mit der Regulation intrazellulärer Transportvorgänge in Nervenzellen oder mit neuronalen Genexpressionsmechanismen befassen. Das Förderprogramm richtet sich bevorzugt an selbständige junge Wissenschaftler, die neue Forschungsthemen aufgreifen und weiterentwickeln wollen. Innovative, teilweise risikoreiche Projekte mit neuartigen methodischen Ansätzen werden bevorzugt gefördert. Bewerbungsende für die letzte Ausschreibung war der 15. November

2010, die eingereichten Projekte durchlaufen derzeit die externe Begutachtungsphase. Dem Gremium der Schram-Stiftung gehören die NWG-Mitglieder Prof. Dr. Heinrich Betz aus Frankfurt/M. sowie Prof. Dr. Eckart Gundelfinger aus Magdeburg an. Außerdem finanzierte die Schram-Stiftung in diesem Jahr das zweite Schram-Symposium als Satellitensymposium der Göttinger Jahrestagung, auf dem die von der Stiftung finanzierten Projektleiter ihre Ergebnisse diskutierten.

Die Ehrenmitgliedschaft in der NWG wurde Dr. Schram für sein langjähriges Engagement für die neurowissenschaftliche Grundlagenforschung verliehen. Wie die Präsidentin der Gesellschaft, Prof. Dr. Sigrun Korsching, bei der Verleihung betonte, soll diese Auszeichnung würdigen, dass Dr. Schram, der auf eine erfolgreiche Karriere in einer ganz anderen Branche zurückblickt, aus persönlichem Interesse und aus Faszination am Forschungsgegenstand sein Vermögen zum Wohl aller der Hirnforschung widmet. Besonders bemerkenswert sei der Fokus der Stiftung auf Grundlagenforschung, der zu den langfristigen Perspektiven in den Neurowissenschaften beiträgt.