

Funktionelle Eigenschaften von Mikrogliazellen im alternden und erkrankten Gehirn

Olga Garaschuk

Wissenschaftliche Grundlagen

Mikrogliazellen sind der Hauptbestandteil der aktiven Immunabwehr im Zentralnervensystem. Im gesunden Gehirn befinden sie sich in einem ruhenden Zustand. Die ruhenden Mikrogliazellen patrouillieren deren unmittelbare Umgebung mit ihren Ausläufern und sind ständig an der Reparatur der Mikroverletzungen des Gehirns (sei es ein Mikroinfarkt oder eine sterbende Zelle) beteiligt. Stärkere pathologische Stimuli führen zu Aktivierung von Mikroglia. Alterungsprozesse sowie die neurodegenerativen Erkrankungen (z.B. Morbus Alzheimer) gehen auch mit einer Aktivierung der Mikrogliazellen einher. Aktivierte Mikrogliazellen sind ein substanzieller Bestandteil der senilen Plaque, einer der histologischen Hauptmerkmale der Alzheimer-Krankheit. Die von diesen Zellen ausgehenden entzündlichen Prozesse leisten, aller Wahrscheinlichkeit nach, einen wichtigen Beitrag zur Pathogenese der Erkrankung. Die aktivierten Mikrogliazellen setzen kalziumabhängig mehrere Zytokine/Entzündungsmediatoren (TNF-, Interleukine, Prostaglandin E₂, etc.) frei. Allerdings wurden bis dato die Mechanismen mikroglialer Kalziumsignalgebung nur in kultivierten Zellen untersucht. Im Vergleich zu in vivo befinden sich diese Zellen in einem ganz anderen Aktivierungszustand. Die Mechanismen sowie der Ablauf dieser Prozesse in vivo sind dagegen weitestgehend unklar.

Ziele

Das Hauptziel unserer Untersuchungen ist es die funktionellen Eigenschaften von Mikrogliazellen in vivo zu charakterisieren. Es handelt sich dabei um die Mechanismen der Kalziumsignalgebung in ruhenden aber auch in aktivierten bzw. sich in einem Aktivierungsprozess befindenden Mikrogliazellen sowie um die zellaktivierungsbegleitenden morphologischen Veränderungen dieser Zellen.

Strategie

Mithilfe der hochauflösenden Zwei-Photonen Mikroskopie kombiniert mit den neuartigen Zellanfärbe-Methoden ist es uns vor Kurzem gelungen die Mikrogliazellen in vivo mit Kalzium-empfindlichen Indikator-Farbstoffen anzufärben und zu visualisieren (Abb. 1). Nun sollen durch in

vivo Langzeitbeobachtungen dieser Zellen im jungen adulten aber auch im alternden (Abb. 2) Gehirn die Gesetzmäßigkeiten deren Kalziumsignalgebung unter Ruhe-Bedingungen untersucht und mit denen der aktivierten Mikrogliazellen in Mausmodellen der Alzheimer-Erkrankung (Abb. 3, 4) verglichen werden. Darüber hinaus soll geklärt werden, inwieweit Mikrogliazellen und die von ihnen freigesetzten entzündlichen Mediatoren zur „Hyperaktivität“ der Neuronen in der Plaque-Nähe (s. Busche et al., Science 2008) beitragen.

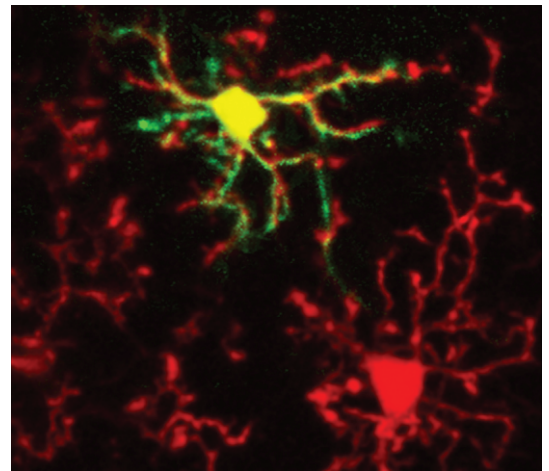


Abb. 1: Mikrogliazellen in vivo, im Cortex einer adulten Maus. Die Zellen exprimieren grünes fluoreszierendes Protein (eGFP, rot). Die obere Zelle ist darüber hinaus mit einem Kalzium-Indikator (Oregon Green BAPTA 1 (OGB-1), grün) gefärbt.

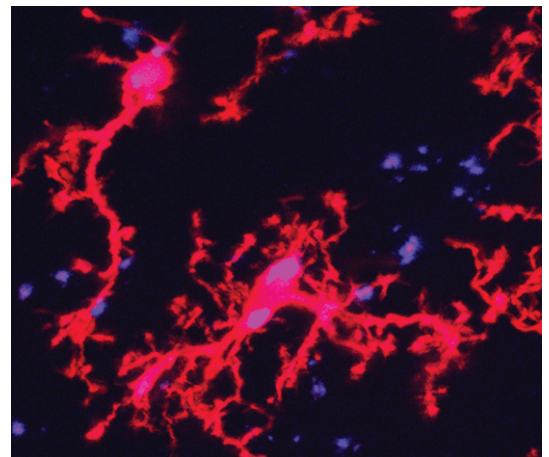


Abb. 2: Mikrogliazellen (rot) im Cortex einer 15 Monate alten Maus. In blau ist die Fluoreszenz des Alterspigments Lipofuscin dargestellt.

Understanding microglial function in the aging and diseased brain

Microglia are primary immune cells of the CNS. Resting microglia found in the healthy adult brain play a critical role in defending its structural and functional integrity. An appearance of a pathological agent/event elicits rapid activation of these cells. Microglial activation also accompanies normal aging as well as neurodegenerative diseases like Alzheimer's disease (AD). In AD brains microglia are clustered in and around amyloid β deposits, the main histological hallmark of the disease. The properties of microglia were extensively studied in reduced preparations (cell cultures) but little is known about functional properties of these cells in vivo. By using multicolor high-resolution two-photon imaging combined with different cell labeling techniques we aim at understanding the mechanisms underlying in vivo calcium signaling in microglia as well as their morphological responses to physiological stimuli in the aging and diseased brain. The ultimate goal of our work is to understand the contribution of microglia to the development of AD and thus to identify possible new strategies for AD therapy.

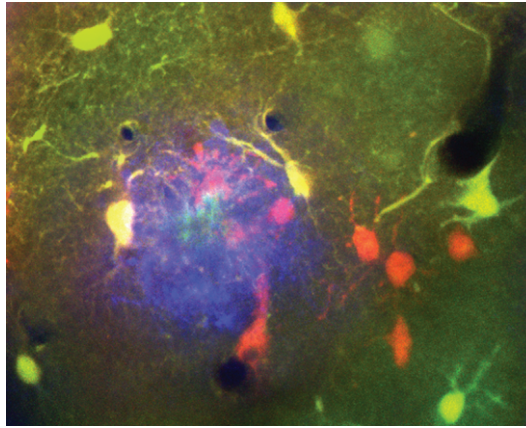


Abb. 4: Abbildung eines anderen Plaques (blau) in der Schicht 1 des Mausekortex. In Plaque-Nähe befinden sich Astrozyten (gelb (OGB-1 + S101)) und Mikroglia-Zellen (rot (eGFP-markiert)).

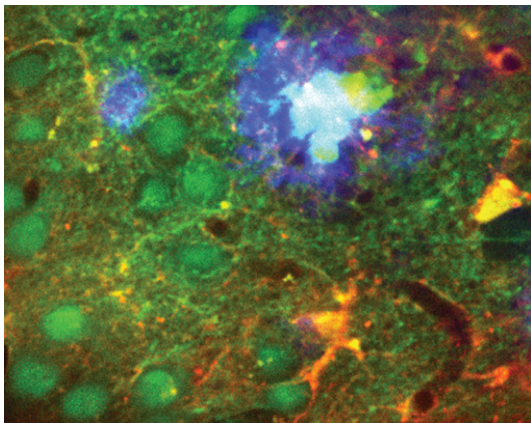


Abb. 3: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Umgebung eines Amyloid-Plaques in vivo, in der Schicht 2/3 des Mausekortex. Die Neuronen und Astrozyten sind mit dem Kalzium-Indikator OGB-1 (grün) eingefärbt. Die Astrozyten sind darüber hinaus mit einem Glia-spezifischen Indikator (Sulforhodamine 101, rot) markiert. Die Plaques sind mit Thioflavin S (blau) eingefärbt.

Projektleitung

Prof. Dr. Olga Garaschuk

Eberhard Karls Universität Tübingen
Physiologisches Institut II
Wilhelmstraße 27
72074 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 73640

Fax: 0049/(0)7071/29 5395

olga.garaschuk@uni-tuebingen.de

www.physiologie.uni-tuebingen.de/dep2/home

