

### Abteilungsdirektor/in | Head of Department

**Prof. Dr. med. Wolfgang Brück**

W2-Professur Experimentelle Neurobiologie | [W2-Professorship Experimental Neurobiology](#)

**Prof. Dr. Uwe Karsten Hanisch** (seit 01.04.2004)

### Hochschullehrer/innen | Professors and Lecturers

*Telefon*

<b>Brück, Wolfgang</b>	Prof. Dr. med.	wbrueck@med.uni-goettingen.de	39-2700
<b>Hanisch, Uwe-Karsten</b> (seit 4/2004)	Prof. Dr.	ukhanisch@med.uni-goettingen.de	39-6520
<b>Stadelmann, Christine</b>	Jun. Prof. Dr. med.	cstadelmann@med.uni-goettingen.de	39-8467
<b>Prinz, Marco</b>	PD Dr. med.	mprinz@med.uni-goettingen.de	39-14340
<b>Schulz-Schaeffer, Walter J</b>	PD Dr. med.	wjschulz@med.uni-goettingen.de	39-2707

### Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen | Other Group Leaders

<b>Kuhlmann, Tanja</b>	Dr. med.	tanjakuhlmann@gmx.de	39-6617
------------------------	----------	----------------------	---------

#### Forschungsschwerpunkte

- ▶ Immunopathologie der Multiplen Sklerose
- ▶ Hirnspezifische Mechanismen der Immunantwort in Multipler Sklerose
- ▶ Axonale Schädigung bei entzündlicher Entmarkung und Mechanismen der Remyelinisierung
- ▶ Mechanismen und Konsequenzen mikroglialer Aktivierung
- ▶ Übertragbare spongiforme Enzephalopathien

#### Research Foci

- ▶ Immunopathology of Multiple Sclerosis
- ▶ Brain-Specific Mechanisms of Immune Response in Multiple Sclerosis
- ▶ Axonal Damage in Inflammatory Demyelination and Mechanisms of Remyelination
- ▶ Mechanisms and Consequences of Microglial Activation
- ▶ Transmissible Spongiform Encephalopathies

## Einleitung

Die Aufgaben der Abteilung liegen in den Bereichen Forschung, Lehre, und Krankenversorgung. Im Bereich Krankenversorgung wird die komplette neuropathologische Diagnostik von Hirntumoren, Tumoren peripherer Nerven sowie der Muskel- und Nervenbiopsiediagnostik geleistet. Die Forschung befasst sich mit verschiedenen Aspekten entzündlicher und degenerativer Erkrankungen des Zentralnervensystems. Ein Schwerpunkt stellt die Multiple Sklerose dar, deren Ursachen, pathogenetische Grundlagen und immunologische Effektormechanismen untersucht werden. Diese Untersuchungen werden begleitet von verschiedenen Studien im Tiermodell der Multiplen Sklerose, der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis. Gleichzeitig werden grundlegende Untersuchungen zu Mechanismen des Myelinabbaus durch Makrophagen und Mikroglia durchgeführt. Die Untersuchungen zu neurodegenerativen Erkrankungen befassen sich mit der Jakob-Creutzfeldt-Erkrankung sowie anderen übertragbaren spongiformen Enzephalopathien. In der Lehre werden schwerpunktmäßig die allgemeinen Grundlagen sowie die speziellen Aspekte der Neuropathologie im Rahmen der Vorlesungen, Praktika und Kurse des Zentrums Pathologie geleistet.

## Preface

The tasks of the Department lie in the areas of research, teaching and patient care. Provision of patient care includes the carrying out of complete neuropathological diagnoses of brain tumours, tumours of the peripheral nervous system, as well as muscle and nerve biopsies. One area of research focuses on multiple sclerosis, its causes, pathogenetic basis, and immunological mechanisms. These investigations are accompanied by various studies in the animal model of multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis. At the same time, basic research is being carried out on the mechanisms of myelin degradation through macrophages and microglia. Research in neurodegenerative diseases focuses on Creutzfeldt-Jakob disease, as well as on other transmissible spongiform encephalopathies. Teaching encompasses not only general basics, but also special aspects of neuropathology that are covered in lectures, practicals and in courses offered by the Centre for Pathology.

## 1. Immunpathologie der Multiplen Sklerose

Die Identifizierung histopathologisch heterogener Muster der Entmarkung bei der Multiplen Sklerose führte zu der Hypothese, dass Untergruppen von MS-Patienten identifiziert werden können, die einer differentiellen Behandlung zugeführt werden müssen. Eine detaillierte Untersuchung eines großen Patientenkollektivs mittels moderner immunpathologischer Methoden belegte die ausgesprochene Heterogenität in den Mustern der Entmarkung bei der MS, wobei vier differente Muster der Entmarkung definiert werden: 1. T-Zell/Makropha-

gen-medierte Entmarkung, 2. Antikörper/Komplement-medierte Entmarkung, 3. Entmarkung mit distaler Oligodendroglipathie und Oligodendrozytenapoptose und 4. Primäre Oligodendrozyten-degeneration in der periplaque-weißen Substanz. Diese pathologischen Befunde belegen die bekannte klinische, radiologische und genetische Heterogenität der Erkrankung und legen eine subtypen-basierte Therapie der MS nahe. Erste Ansätze hierzu lieferten Untersuchungen, in denen wir zeigen konnten, dass MS-Patienten mit dem Typ II (Antikörper/Komplement-medierte Entmarkung) signifikant von einer Plasmapherese profitierten. Die in vivo Identifikation dieser Subtypen bei MS-Patienten sowie die weitere detaillierte Charakterisierung der MS-Läsionen ist Ziel weiterführender Untersuchungen. Hierbei stehen pathologisch-radiologische Korrelationen sowie die Suche nach Serum- und genetischen Markern im Vordergrund. Mechanismen der Remyelinisierung als regeneratives Phänomen sowie neurodegenerative Aspekte der MS wie Axonverlust und kortikale Entmarkung stehen im Mittelpunkt weiterer laufender Untersuchungen, die von tierexperimentellen Studien in verschiedenen Modellen begleitet werden.

## 1. Immunopathology of Multiple Sclerosis

The identification of histopathologically heterogeneous patterns of demyelination in multiple sclerosis led to the hypothesis that subgroups of MS patients can be identified in which differentiated treatment regimes must be applied. A detailed investigation of a large patient collective based on modern immunopathological methods showed marked heterogeneity in the demyelination patterns in MS, and four different demyelination patterns were defined: 1. T-cell/macrophage-mediated demyelination; 2. antibody/complement-mediated demyelination; 3. demyelination with distal oligodendroglipathy and oligodendrocyte apoptosis and 4. primary oligodendrocyte degeneration in the periplaque white matter. These pathological findings support the known clinical, radiological and genetic heterogeneity of the disease and suggest a subtype-based treatment of MS. Initial approaches in this direction comprised studies in which we have already shown that MS patients with type II (antibody/complement-mediated demyelination) benefited significantly from therapeutic plasma exchange. The in vivo identification of these subtypes in MS patients, as well as further detailed characterization of MS lesions is the goal of ongoing investigations. Purpose of these investigations is the pathological-radiological correlations as well as the search for serum and genetic markers. Mechanisms of remyelination as regenerative phenomenon as well as neurodegenerative aspects of MS such as axonal loss and cortical demyelination are the focus of further studies in which animal experimental studies in various models are being used.

### Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. med. Wolfgang Brück

**Kooperationen | Cooperations**

Prof. C. Lucchinetti, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

Prof. Hans Lassmann, Institut für Hirnforschung, Wien, Österreich

PD Dr. Michael Sailer, Neurologische Klinik, Universität Magdeburg

**Drittmittelförderung | Funding**

Gemeinnützige Hertie-Stiftung, 1994-2005

American MS-Society, 2000-2005

**Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**Brück W (2005) The pathology of multiple sclerosis is the result of focal inflammatory demyelination with axonal damage. *J NEUROL*, 252 Suppl 5: v3-v9.Brück W (2005) Clinical implications of neuropathological findings in multiple sclerosis. *J NEUROL*, 252 Suppl 3: iii10-iii14Brück W (2005) Inflammatory demyelination is not central to the pathogenesis of multiple sclerosis. *J NEUROL*, 252 Suppl 5: v10-v15.Brück W, Stadelmann C (2005) The spectrum of multiple sclerosis: new lessons from pathology. *CURR OPIN NEUROL*, 18(3): 221-4.Keegan M, König F, McClelland R, Brück W, Morales Y, Bitsch A, Panitch H, Lassmann H, Weinschenker B, Rodriguez M, Parisi J, Lucchinetti CF (2005) Relation between humoral pathological changes in multiple sclerosis and response to therapeutic plasma exchange. *LANCET*, 366(9485): 579-82Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H (2005) Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *BRAIN*, 128(Pt 11): 2705-12.Lucchinetti CF, Parisi J, Bruck W (2005) The pathology of multiple sclerosis. *NEUROL CLIN*, 23(1): 77-105, vi.**2. Hirnspezifische Mechanismen der Immunantwort in Multipler Sklerose**

Entzündliche Erkrankungen des ZNS wie Multiple Sklerose und das entsprechende Tiermodell EAE sind durch Infiltration aktivierter Lymphozyten und Phagozyten in das ZNS charakterisiert. Innerhalb des ZNS initiiert die Aktivierung von hirneigenen Zellen eine entzündliche Kaskade, die zur Gewebezersetzung, Entmarkung und neurologischen Defiziten führt. Toll-like-Rezeptoren (TLRs) erkennen Mikroben und sind von zentraler Bedeutung als Mediatoren für angeborene Immunität. Erhöhte TLR-Expression innerhalb des ZNS wird sogar in Abwesenheit von jeglicher offensichtlicher mikrobieller Beteiligung beobachtet. Um die funktionelle Relevanz dieses Phänomens während steriler Autoimmunität zu ermitteln, untersuchten wir die Rolle verschiedener TLRs sowie ihres gemeinsamen Signaling-Adaptors MyD88 bei der EAE. Wir stellten fest, dass die MyD88-Mäuse vollständig EAE-resistent waren. Überraschenderweise war dieser Resistenz teilweise durch die Bindung des CpG-Rezeptors TLR9 bedingt. Die Eingrenzung der MyD88- oder TLR9-Mutation auf endogene radioresistente Zellen, einschließlich des ZNS, zeigten, dass die Bindung an radioresistente Zellen den Krankheitsverlauf und histopathologischen Veränderungen modulierte. Unsere Daten zeigten, dass sowohl TLR9 als auch MyD88 entscheidende Modulatoren im autoimmunen Prozess während der Effektorenphase der Erkrankung sind, und liegen nahe, dass endogene „Gefahrensignale“ wie Infektionen die Pathogenese der Erkrankung modulieren.

**2. Brain-specific Mechanisms of Immune Response in Multiple Sclerosis**

Inflammatory diseases of the CNS, such as MS and its animal model EAE, are characterized by infiltration of activated lymphocytes and phagocytes into the CNS. Within the CNS, activation of resident cells initiates an inflammatory cascade, leading to tissue destruction, demyelination and neurological deficit. TLRs recognize microbes and are pivotal mediators of innate immunity. Within the CNS, augmented TLR expression during EAE is observed, even in the absence of any apparent microbial involvement. To determine the functional relevance of this phenomenon during sterile autoimmunity, we studied the role of different TLRs as well as their common signalling adaptor MyD88 in the development of EAE. We found that MyD88 mice were completely EAE resistant. Surprisingly, this protection is partly due to engagement of the CpG receptor TLR9. Restricting the MyD88 or TLR9 mutation to host radio-resistant cells, including the cells within the CNS, revealed that engagement of radio-resistant cells modulated the disease course and histopathological changes. Our data clearly demonstrate that both TLR9 and MyD88 are essential modulators of the autoimmune process during the effector phase of the disease and suggest that endogenous „danger signals“ modulate the disease pathogenesis.

**Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders**

PD Dr. med. Marco Prinz

**Kooperationen | Cooperations**

Burkhard Becher, University of Zürich, Schweiz

Mathias Heikenwalder, University of Zürich, Schweiz

Ulrich Kalinke, Paul-Ehrlich-Institut, Langen

Manolis Pasparakis, EMBL, Monterotondo, Rome, Italien

Josef Priller, Charité, Humboldt University, Berlin

**Drittmittelförderung | Funding**

DFG Einzelförderung, seit 2002

Hertie Foundation, seit 2003

Fritz-Thyssen Foundation, seit 2003

Serono GmbH, seit 2004

Biogen Idec, seit 2004

DFG Forschungszentren, CMPB, seit 2005

Gertrud-Reemtsma Foundation, seit 2005

**Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**M.Prinz, F.Garbe, H.Schmidt, A.Mildner, I.Gutcher, K.Wolter, M.Piesche, R. Schroers, E.Weiss, C.J.Kirschning, C.D.P. Rochford, W.Brück, B. Becher (2006) Innate immunity mediated by TLR9 modulates pathogenicity in an animal model of multiple sclerosis. *J CLIN INVEST* 116(2): 456-464.F.L.Heppner, M.Greter, D.Marino, J.Falsig, G.Raivich, N.Hövelmeyer, A.Waisman, T.Rülicke, M.Prinz, J.Priller, B.Becher, A.Aguzzi (2005) Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis. *NATURE MEDICINE* 11(2):146-152.G. van Loo, R. DeLorenz, H. Schmidt, M. Huth, A. Mildner, M. Schmidt-Supprian, K. Rajewsky, H. Lassmann, M. Prinz\*, M. Pasparakis\*: NF- $\kappa$  inhibition in the central nervous system protects mice from EAE. (+M.P. and M.P. contributed equally). (2006) *NATURE IMMUNOLOGY*, Epub ahead of Press, 2006 Aug. 6.M.Prinz, M.Heikenwalder, T.Junt, P.Schwarz, M.Glatzel, F.L.Heppner, Y.X.Fu, M.Lipp, A.Aguzzi: Positioning of follicular dendritic cells within the spleen controls prion neuroinvasion (2003) *NATURE* 425(6961):957-962.

### 3. Axonale Schädigung bei entzündlicher Entmarkung und Mechanismen der Remyelinisierung

Forschungsergebnisse der letzten Jahre weisen darauf hin, dass nicht so sehr der Verlust an Myelinscheiden, sondern vielmehr das Ausmaß an axonaler Schädigung mit der bleibenden klinischen Behinderung der MS-Patienten korreliert. Axonale Schädigung wird vorwiegend in frühen, entzündlichen MS-Läsionen gefunden. Eine Korrelation von CD8-positiven T-Zellen und Makrophagen mit der Anzahl APP-positiver axonaler Sphäroide als Ausdruck der akuten axonalen Schädigung konnte festgestellt werden. Die Pathogenese der axonalen Schädigung in MS-Läsionen ist weitgehend ungeklärt. Die ausgeprägte Heterogenität zwischen verschiedenen Patienten führte zu der Hypothese, dass möglicherweise auch Varianten entzündlicher ZNS-Erkrankungen mit primärer Immunattacke gegen axonale Proteine existieren. Außerdem stellt sich die Frage, inwieweit bei manchen Patienten eine gesteigerte endogene Vulnerabilität gegenüber axonaler Schädigung durch entzündliche Mediatoren besteht. Zur Beantwortung dieser Fragestellungen werden neue experimentelle Modelle entwickelt, die die menschliche Pathologie besser als bisher verfügbare Modelle reflektieren.

Ein wesentlicher prädisponierender Faktor für axonale Schädigung ist die Entmarkung. So stehen Bestrebungen, die Bildung neuer Markscheiden zu fördern, im Mittelpunkt therapeutischer Ansätze für die multiple Sklerose. Remyelinisierte Axone können in ca. 40% der Läsionen gefunden werden; allerdings beschränken sich die remyelinisierten Areale häufig auf den Läsionsrand. Patienten mit ausgeprägter Remyelinisierung stehen solchen mit kaum nachweisbarer Remyelinisierung gegenüber. Wir gehen unter anderem der Frage nach, ob Polymorphismen in myelinisierungsassoziierten Genen die individuelle Remyelinisierungskapazität beeinflussen.

### 3. Axonal Damage in Inflammatory Demyelination and Mechanisms of Remyelination

The severity of permanent clinical disability in MS patients is largely determined by the extent of axonal loss. Our studies in a large number of MS autopsies indicate that the extent of axonal loss is heterogeneous between patients – and relatively homogeneous between different lesions of the same patient. Thus, two main hypotheses form the basis of our axon-related research projects: 1) that a genetically determined, differential vulnerability may influence the susceptibility towards inflammatory axonal damage, and 2) that in a subpopulation of patients, axons may be damaged via a specific – primary or secondary – attack of the immune system. With our large collection of MS autopsy brains, we are currently generating a data base of genetic polymorphisms and allelic variants of candidate genes (e.g., ApoE, Cox-2, CNTF, oestrogen receptor 1, and CCR5). Genotype frequencies are then correlated with well-defined histopathological parameters, e.g., extent of re-

myelination and percentage of axonal loss. In corresponding EAE experiments, mice models with gene deficiencies (potentially important for axonal function, e.g. stathmin and ApoE), are being examined.

In previous studies, we have shown that the extent of remyelination is heterogeneous between MS patients. On the one hand, this may be caused by metabolic, “genetic” differences of oligodendrocytes between patients; while the extent of axonal loss or a differential axonal permissiveness for remyelination could impede successful remyelination. A study in over 150 MS autopsies was carried out to correlate the efficiency in remyelination with polymorphisms in myelination-associated candidate genes designed to identify candidate molecules and pathways for therapeutic intervention. Substances promoting remyelination are currently tested *in vitro* and in animal models. Testing pro-remyelinating substances in humans is currently hampered by the lack of a reliable imaging correlate for remyelination. Recently, we applied the cuprizone mouse model of non-inflammatory demyelination to delineate a multi-parameter approach that is able to identify animals with remyelination. This model is at present modified to allow the identification of MRI parameters for remyelination in brain tissue altered by demyelination *and* inflammation.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Jun. Prof. Dr. med. Christine Stadelmann-Nessler

#### Kooperationen | Cooperations

PD Dr. med. Ricarda Diem, Abteilung Neurologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Prof. Dr. rer. nat. Klaus-Armin Nave, Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Göttingen

Prof. Dr. Norbert Sommer, Klinik für Neurologie, Marburg

Prof. Dr. rer. nat. Jens Frahm, Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Universität Göttingen

Prof. Dr. med. Hans Lassmann, Institut für Hirnforschung, Wien, Österreich

Prof. Dr. rer. nat. Patrizia Casaccia-Bonneli, Dept. of Neuroscience and Cell Biology, Piscataway, NJ, USA

Prof. Dr. rer. nat. Christiane Richter-Landsberg, Abteilung für Molekulare Neurobiologie, Oldenburg

Prof. Dr. med. Bernhard Hemmer, Klinik für Neurologie, Düsseldorf

#### Drittmittelförderung | Funding

Gemeinnützige Hertie-Stiftung

#### Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Juniorforscherguppe in der Klinik, gemeinsam mit PD Dr. med. Ricarda Diem, 2003-2006

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2005

#### Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Kerschensteiner M, Stadelmann C, Merkler D, Buddeberg BS, Bareyre FM, Anthony DC, Linington C, Brück W, Schwab ME (2004) Targeting EAE lesions to a predetermined axonal tract system allows for refined behavioural testing in an animal model of multiple sclerosis. *AM J PATHOL* 164:1455-1469.

Stadelmann C, Ludwin S, Tabira T, Guseo A, Lucchinetti CF, Lee-Ösly L, Ordinario AT, Brück W, Lassmann H (2005) Tissue preconditioning may explain concentric lesions in Balo's type of multiple sclerosis. *BRAIN* 128:979-87

Müller GJ, Stadelmann C, Bastholm L, Elling F, Lassmann H, Johansen FF (2004) Ischemia Leads to Apoptosis- and Necrosis-Like Neuron Death in the Rat Hippocampus. *BRAIN PATHOL* 14:415-24.

Kerschensteiner M, Bareyre FM, Buddeberg BS, Merkler D, Stadelmann C, Bruck W, Miggeld T, Schwab M (2004) Remodelling of axonal connections contributes to recovery in an animal model of multiple sclerosis. *J EXP MED* 200:1027-38.

Diem R, Sattler MB, Merkler D, Demmer I, Maier K, Stadelmann C, Ehrenreich, Bähr M (2005) Combined therapy with methylprednisolone and erythropoietin in a model of multiple sclerosis. *BRAIN* 128:375-85.

Sättler (née Hobom) MB, Merkler D, Maier K, Stadelmann C, Ehrenreich H, Bähr M, Diem R (2004) Neuroprotective effects and intracellular signalling pathways of erythropoietin in a rat model of multiple sclerosis. *CELL DEATH DIFFER SUPPL* 2: S181-92.

Liu A, Stadelmann C, Shen S, Moscarello M, Sobel A, Mastronardi F, Casaccia-Bonnel P (2005) Inhibitors of morphological differentiation of oligodendrocyte progenitors are inappropriately re-expressed in the brain of patients with multiple sclerosis. *J NEUROSCI* 25:737-47.

Merkler D, Boretius S, Stadelmann C, Ernsting T, Michaelis T, Frahm J, Brück W (2005) Multicontrast MRI of remyelination in the central nervous system. *NMR BIOMED* 18:395-403.

Tauber SC, Stadelmann C, Spreer A, Nau R, Gerber J (2005) Increased expression of BDNF and proliferation of dentate granule cells after bacterial meningitis. *J NEUROPATHOL EXP NEUROL* 64:806-15.

Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Bruck W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H (2005) Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 128:2705-2712.

#### 4. Mechanismen und Konsequenzen mikroglialer Aktivierung

Eine Aktivierung mikroglialer Zellen, die als Makrophagen-Äquivalent des ZNS gelten, ist nicht nur Folge sondern kritischer Bestandteil neuropathologischer Veränderungen, wobei neben prinzipiell protektiven auch schädigende Einflüsse resultieren können. Molekulare Signale (aktivierende und modulierende Faktoren), zelluläre Mechanismen (Rezeptoren und intrazelluläre Signalwege) und funktionelle Konsequenzen (Produktion von Mediatoren und Effektoren, Phagozytose, Expression von Oberflächenmolekülen für Zellinteraktionen) des Aktivierungsprozesses, wie sie bei der Multiplen Sklerose (MS) von vermuteter Bedeutung sind, werden dabei in verschiedenen Projekten untersucht. *Phänotypische Diversität*: Während frühere Auffassungen davon ausgingen, dass der Aktivierungsprozess einem Stereotyp folgt, wenig Anpassungen an bestimmte Situationen zulässt und kaum durch Einflüsse anderer Zellen gesteuert wird, kann man heute für Makrophagen/Mikroglia unterschiedliche reaktive Phänotypen darstellen. Bei der MS scheint die Phagozytose von geschädigten Myelin-Strukturen Voraussetzung für (partielle) Remyelinisierung zu sein. Eine rasche Entfernung von potentiell autoimmunogenem Material könnte auch das Risiko weiterer Immunattacken verringern. In Modellen der Konfrontation von Mikroglia/Makrophagen mit geschädigtem Nervengewebe wurde dabei ein von bisher bekannten (induzierbaren) reaktiven Phänotypen unterscheidbarer Phänotyp identifiziert, der eine *a priori* anti-inflammatorische Ausrichtung mit Tendenz zur Unterstützung von Th2-Immunantworten aufweist. *Protein-Tyrosin-Kinase (PTK)-Signaling*: Im Mittelpunkt steht eine Tyrphostin AG126-sensitive PTK-Aktivität, die durch unterschiedliche extrazelluläre Faktoren über Stimulation von *Toll-like receptors* (TLR) in Mikroglia aktiviert wird und über zentrale intrazelluläre Signalwege und Einstellungen (MAPK-Kaskaden, Kalzium-Niveau) die Reaktionsfähigkeit der Zellen (z.B. Ansprechen auf Komplementfaktoren und Kostransmitter) sowie deren exekutive Leistungen (z.B. Produktion immunregulatorischer Faktoren) steuert. Nach einer Charakterisierung

der Einbindung und ungefähren hierarchischen Einordnung in das Signalgeschehen von TLR1/2, TLR3, TLR4, TLR6/2 und TLR9 sowie dabei resultierender Konsequenzen haben wir jetzt mit einer molekularen Identifizierung der PTK begonnen. *Serumfaktoren als Signale und Modulatoren*: Ein wichtiges Kompartiment, aus dem bei Gewebeschädigungen oder Störungen der Blut-Hirn-Schranken-Funktion Mikroglia-relevante Signale in das ZNS-Parenchym übertreten, stellt das Blut dar. Serumkomponenten, wie beispielsweise Proteasen der Gerinnungskaskade, können dabei über unterschiedliche Mechanismen (z.B. *protease-activated receptors*, PAR) gliale und neuronale Funktionen steuern. Allerdings wurden dabei in der Vergangenheit auch funktionelle Fehlzusammenhänge vorgenommen, so z.B. Thrombin (Faktor IIa) mikrogliale Konsequenzen zugeordnet, die eigentlich nicht auf diese Protease selbst entfallen. Die Charakterisierung tatsächlicher PAR-abhängiger Thrombin-Funktionen für Mikroglia und Aufdeckung eines TLR4-getragenen Mechanismus für Thrombin-assoziierte Wirkungen stand im Mittelpunkt dieses Projektes.

#### 4. Mechanisms and Consequences of Microglial Activation

Activation of microglial cells, considered the macrophage equivalent of the CNS, is not only a consequence but critical element of neuropathological changes. Besides basically protective consequences, also damaging outcomes can result. Molecular signals (activating and modulating factors), cellular mechanisms (receptors and intracellular signalling pathways) and functional consequences (production of mediators and effectors, phagocytosis, expression of surface molecules for cell interactions) of the activation process with assumed importance for multiple sclerosis (MS) are subject of various projects. *Phenotypic diversity*: While previous concepts considered the activation process to follow a stereotype, with little adaptations to specific situations and little influence by other cells, commitment to distinct reactive phenotypes has meanwhile been demonstrated for macrophages/microglia. In MS, phagocytosis of damaged myelin structures seems to be a prerequisite for (partial) re-myelination. Rapid removal of potentially auto immunogenic material could also lower the risk for further immune attacks. In models of confrontation of microglia/macrophages with damaged nerve tissue, we identified a novel phenotype which can be distinguished from other known (inducible) reactive phenotypes. It reveals an *a priori* anti-inflammatory orientation with bias for supporting Th2 immune responses. *Protein tyrosine kinase (PTK) signaling*: We have been focusing on a tyrphostin AG126-sensitive PTK activity, which is activated by various extracellular factors through stimulation of toll-like receptors (TLR) in microglia. It controls cellular responsiveness (e.g. to complement factors and cotransmitters) and executive performance (e.g. synthesis of immunoregulatory factors) via central intracellular pathways /adjustments (MAPK cascades, calcium level). Following characterization of the involvement and first hierarchical positioning within signalling events of TLR1/2, TLR3, TLR4, TLR6/2

and TLR9 as well as their resulting consequences, we have started identifying the molecular nature of the PTk. *Serum factors as signals and modulators*: Blood represents an important compartment, from which microglia-relevant signals can penetrate the CNS parenchyma upon tissue injury or impairment of blood-brain barrier function. Serum components, like proteases of the coagulation cascade, can thereby influence glial and neuronal functions through different mechanisms (e.g. protease-activated receptors, PAR). In the past, however, functions have also been wrongly assigned, for example, certain effects on microglia to thrombin (factor IIa), which actually do not rely on the protease. Characterization of true PAR-dependent thrombin functions and unravelling of a TLR4-carried mechanism of thrombin-associated effects have been the focus of this project.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. rer. nat. Uwe-Karsten Hanisch

#### Kooperationen | Cooperations

Prof. Thomas Berger, Prof. Markus Reindl, Universität Innsbruck, Österreich

Prof. Shlomo Rotshenker, Hebrew University Jerusalem, Israel

Prof. Thomas Möller, University of Washington, Seattle, USA

#### Drittmittelförderung | Funding

DFG Sonderforschungsbereich 507, 2002-2004

Niedersächsisch-israelische Gemeinschaftsvorhaben, Volkswagen-Stiftung, 2005-2007

Gemeinnützige Hertie-Stiftung, 2006-2008

#### Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Schwartz M, Butovsky O, Brück W, Hanisch UK (2006) Microglial phenotype: Is the commitment reversible? *TRENDS NEUROSCI* 29: 68-74.

Weinstein JR, Hong S, Kulman JD, Bishop C, Kuniyoshi J, Andersen H, Ransom BR, Hanisch UK\*, Möller T\* (2005) Unravelling thrombin's true microglia-activating potential: Markedly disparate profiles of pharmaceutical-grade and commercial-grade thrombin preparations. *J NEUROCHEM* 95: 1177-1187. \*authors equally contributed to this work

Waetzig V, Czeloth K, Hidding U, Mielke K, Kanzow M, Brecht S, Götz M, Lucius R, Herdegen T, Hanisch UK (2005) c-Jun N-terminal kinases (JNKs) mediate pro-inflammatory actions of microglia. *GLIA* 50: 235-246.

Hanisch UK, van Rossum D, Gast K, Misselwitz R, Goldstein G, Koistinaho J, Kettenmann H and Möller T (2004) The microglia-activating potential of thrombin: The protease is not involved in the induction of proinflammatory cytokines and chemokines. *J BIOL CHEM* 279: 51880-51887.

Kann O, Hoffman A, Schumann RR, Weber JR, Kettenmann H, Hanisch UK (2004) The tyrosine kinase inhibitor AG126 restores receptor signalling and blocks release functions in activated microglia (brain macrophages) by preventing a chronic rise in the intracellular calcium level. *J NEUROCHEM* 90: 513-525.

Angstwurm K, Hanisch UK, Bastholm-Bille M, Gassemi T, Dirnagl U, Kettenmann H, Weber JR (2004) Tyrosine kinase inhibition reduces inflammation in the acute stage of experimental pneumococcal meningitis. *INFECT IMMUN* 72: 3294-3298.

Balcaitis S, Xie Y, Weinstein JR, Andersen H, Hanisch UK, Ransom BR, Möller T (2003) Expression of proteinase-activated receptors in mouse microglial cells. *NEUROREPORT* 14: 2373-2377.

Boucsein C, Zacharias R, Färber K, Pavlovic S, Hanisch UK, Kettenmann H (2003) Purinergic receptors on microglial cells: functional expression in acute brain slices and modulation of microglial activation in vitro. *EUR J NEUROSCI* 17: 2267-2276.

Hoffmann A, Kann O, Ohlemeyer C, Kettenmann H\*, Hanisch UK\* (2003) Elevation of basal intracellular calcium concentration as a central event in the activation of brain macrophages (microglia): suppression of receptor-evoked calcium signalling and control of release function. *J NEUROSCI* 23: 4410-4419. \*authors equally contributed to this work

## 5. Übertragbare spongiforme Enzephalopathien

### *Pathophysiologie der Erregeraufnahme und Erregerausbreitung bei TSE*

Transmissible spongiforme Enzephalopathien sind neurodegenerative Erkrankungen bei Menschen und Tieren, die nach einer Jahrzehnte dauernden Inkubationszeit immer mit dem Tod enden. Scrapie, BSE und Creutzfeldt-Jakob Krankheit zeigen dabei das gemeinsame pathophysiologische Krankheitsprinzip, dass ein Zelloberflächenprotein (das Prionprotein) neben seiner physiologischen auch in einer pathologischen Konformation auftritt. Das Protein gewinnt mit dieser pathologischen Konformation zwei krankheitsrelevante Eigenschaften: es aggregiert und entzieht sich dadurch partiell dem körpereigenen Abbau und es kann dem physiologischen Prionprotein seine pathologische Konformation aufzwingen und sich dadurch vermehren. Neben sporadischem und hereditärem Auftreten können TSE akquiriert werden, also durch Einbringen des infektiösen Agens von außen in den Körper ausgelöst werden (BSE). Dabei können auch Artenbarrieren überwunden werden (Variante der Creutzfeldt-Jakob Krankheit). Um die Erregeraufnahme und -ausbreitung im Körper verstehen zu können, wurde ein Hamster-Modell entwickelt, in dem nach oraler Erregeraufnahme die Erregerausbreitung während der Inkubationszeit gezeigt werden konnte. Kleinste Mengen pathologischen Prionproteins können in seiner topographischen Verteilung mit der in Göttingen entwickelten PET blot Methode erkannt werden. Dadurch konnte der Ausbreitungsweg des pathologischen Prionproteins in die Muskulatur erkannt werden. Am Modell wird untersucht, welche Faktoren die Erregeraufnahme und -ausbreitung beeinflussen. Der Arbeitsgruppe ist es gelungen, die extrazerebrale Erregerausbreitung bei der BSE identifizieren zu können.

### *Pathologische Proteinaggregation bei der Entwicklung neurodegenerativer Krankheiten*

Ziel ist es das Spektrum neurodegenerativer Erkrankungen, insbesondere der Prionkrankheiten, zu erfassen und Einblicke in die physiologische Funktion des Prionproteins zu erhalten. Gegenwärtig wird der Mechanismus der Proteinaggregation in seiner Bedeutung für die Krankheitsentwicklung untersucht. Etliche neurodegenerative Erkrankungen gehen mit Ablagerungen von Proteinen des Nervensystems (z.B. Prionprotein,  $\alpha$ -Synuclein, Amyloidprecursorprotein (APP), Tau-Protein) einher. Bislang ist völlig unklar, wie die Proteinaggregatablagerungen zur Neurodegeneration führen. In vorangegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die neurotoxische Wirkung eines aggregierten Prionproteinfragmentes von dem Vorhandensein physiologischen Prionproteins abhängt und dass ein neurotoxischer Effekt Mikroglia-vermittelt ist. Jetzt werden am Beispiel des Prionproteins das Zustandekommen der pathologischen Proteinaggregationen, seine Bedeutung für pathophysiologische Prozesse und das Krankheitsgeschehen untersucht, sowie auf Struktureigenschaften beruhende Nachweisverfahren entwickelt.

## 5. Transmissible Spongiform Encephalopathies

### *Pathophysiology of the uptake and spread of the TSE causative agent*

Transmissible spongiform encephalopathies are neurodegenerative diseases in humans and animals which, following an incubation time of up to decades, culminate in a fulminant clinical disease course invariably ending in death. Scrapie and BSE in animals and Creutzfeldt-Jakob disease in humans display a new disease principle, in which a cell surface protein (the prion protein) acquires a pathological conformation that leads to two disease-relevant properties: it accumulates and partially escapes from the body's own degradation and it can force its pathological conformation onto the physiological prion protein and thus reproduce itself. To be able to understand how the causative agent enters the body and travels, a hamster model was developed to show the spread of the agent after oral ingestion and during the incubation period. The topographic spread of even minute amounts of the pathological prion protein can be recognised using the presently most sensitive morphological detection method, the PET blot method. With this method the topographical spread of pathological prion proteins to muscles could be determined. Investigation in a model will show which factors influence absorption of the infectious agent and its spread. Our work group has been able to identify the extracerebral spread of the infectious agent in BSE.

### *Pathological protein aggregation in the development of neurodegenerative diseases*

Following on the first objective, we are now investigating the mechanisms of protein aggregation and its significance in the development of disease. A number of neurodegenerative diseases are associated with the deposition of proteins of the nervous system (e.g. prion protein,  $\alpha$ -synuclein, amyloid precursor protein (APP) and tau protein). These accumulations occur through the aggregation of originally soluble proteins. At present it is unknown how deposits of protein aggregates lead to neurodegeneration. Based on the example of the prion protein, the materialisation of pathological protein aggregations, their implications for pathophysiological processes and the development of disease are being investigated, and detection methods based on structural characteristics are being developed.

#### **Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders**

PD Dr. med. Walter Schulz-Schaeffer

#### **Kooperationen | Cooperations**

Dr. M. Beekes, Robert-Koch-Institut Berlin (Hamster-TSE-Modell)

Dr. C. Farquhar, NPU Edinburgh, UK (experimentelle Tiermodelle)

Prof. Dr. C. Lasmezas, CEA Paris, Frankreich (experimentelle Mäusemodelle)

Dr. P. Parchi, Neurologie Universität Bologna, Italien (Biochemische PrP-Scrapie Typisierung)

Dr. O. Jolles, Anatomie, Universität Liege, Belgien (Erregeraufnahme)

Prof. Dr. B. Brenig/Prof. Dr. H.-P. Czerny/Dr. W. Wemheuer, Institut für Tiermedizin, Agrarwissenschaftliche Fakultät, Universität Göttingen (BSE)

Prof. Dr. G. Hunsmann, Deutsches Primatenzentrum, Göttingen (Virologie und Immunologie)

Prof. Dr. W. Bodemer, Deutsches Primatenzentrum, Göttingen (Primatenmodelle)

Prof. Dr. I. Zerr, Dr. B. Mollenhauer, Abt. Neurologie, Universität Göttingen

Dr. H. Kratzin, Massenspektroskopie, MPI für experimentale Medizin, Göttingen

Prof. Dr. C. Griesinger, NMR-based Structural Biology, MPI für. biophys. Chemie, Göttingen

#### **Drittmittelförderung | Funding**

MWK/VW-Stiftung, Förderung einer Nachwuchsforschergruppe „TSE Koordinierungsstelle“, 2001-2006

EU, PrPSc-nEUROPATHWAYS (QLG3-CT-2002-81030), 2002-2005

#### **Ausgewählte Publikationen | Selected Publications**

Thomzig A, Schulz-Schaeffer W, Kratzel C, Mai J, Beekes M (2004) Preclinical deposition of pathological prion protein PrP<sup>Sc</sup> in muscles of hamsters orally exposed to scrapie. *J CLIN INVEST*, 113(10):1465-72.

Schneider A, Schulz-Schaeffer W, Hartmann T, Schulz JB, Simons M (2006) Cholesterol depletion reduces aggregation of amyloid-beta peptide in hippocampal neurons. *NEUROBIOL DIS*. 2006 Jun 13; [Epub ahead of print].

Krasnianski A, Schulz-Schaeffer WJ, Kallenberg K, Meissner B, Collie DA, Roeber S, Bartl M, Heinemann U, Varges D, Kretzschmar HA, Zerr I (2006) Clinical findings and diagnostic tests in the MV2 subtype of sporadic CJD.

*BRAIN*. 2006 May 23; [Epub ahead of print].

Weise J, Sandau R, Schwarting S, Crome O, Wrede A, Schulz-Schaeffer W, Zerr I, Bahr M (2006) Deletion of cellular prion protein results in reduced Akt activation, enhanced post ischemic caspase-3 activation, and exacerbation of ischemic brain injury. *STROKE* 2006 May;37(5):1296-300. Epub 2006 Mar 30.

Windl O, Buchholz M, Neubauer A, Schulz-Schaeffer W, Groschup M, Walter S, Arendt S, Neumann M, Voss AK, Kretzschmar HA (2005) Breaking an absolute species barrier: transgenic mice expressing the mink PrP gene are susceptible to transmissible mink encephalopathy. *J VIROL* 79(23):14971-5.

Meissner B, Westner IM, Kallenberg K, Krasnianski A, Bartl M, Varges D, Bosenberg C, Kretzschmar HA, Knauth M, Schulz-Schaeffer WJ, Zerr I (2005) Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: clinical and diagnostic characteristics of the rare VV1 type. *NEUROLOGY* 22;65(10):1544-50.

Boesenberg C, Schulz-Schaeffer WJ, Meissner B, Kallenberg K, Bartl M, Heinemann U, Krasnianski A, Stoek K, Varges D, Windl O, Kretzschmar HA, Zerr I (2005) Clinical course in young patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *ANN NEUROL* 58(4):533-43.

Liu Y, Walter S, Stagi M, Cherny D, Letiembre M, Schulz-Schaeffer W, Heine H, Penke B, Neumann H, Fassbender K (2005) LPS receptor (CD14): a receptor for phagocytosis of Alzheimer's amyloid peptide. *BRAIN* 128(Pt 8):1778-89.

Rostasy KM, Piepkorn M, Goebel HH, Menck S, Hanefeld F, Schulz-Schaeffer WJ (2004) Monocyte/macrophage differentiation in dermatomyositis and polymyositis. *MUSCLE NERVE* 30(2):225-30.

Koch S, Schulz-Schaeffer W, Kramer A (2003) Hygieneanforderungen an die Biopsie- und Autopsiediagnostik. *Pathologe* 24(2):91-7.

## Anhang | Appendix

#### **Habilitationen**

Prinz M, Die Rolle des Immunsystems in der Pathogenese der Prionerkrankungen. Habilitation Universität Göttingen 2004.

Schulz-Schaeffer W, Charakterisierung neuropathologischer Läsionsprofile bei der Creutzfeldt-Jakob Erkrankung, Habilitation Universität Göttingen, 2006.

#### **Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)**

##### **Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)**

Wollrath A, Dr. med., Die Rolle von Transformierendem Wachstumsfaktor beta-2 (TGF- $\beta$ 2) bei der Makrophagen- und Mikroglia- vermittelten Myelinphagozytose in vitro. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Lorenz H, Dr. med., Untersuchungen zur Interaktion von neuroaktiven Tryptophanmetaboliten mit den renalen organischen Anionentransportern 1 und 3. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Neizel M, Dr. med., Etablierung eines Proteinaggregate-Filtrationsassays zum Nachweis von A $\beta$ - und Tau-Aggregaten. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Madlung A, Dr. med., Die Bedeutung von aktivierten Mikrogliazellen und oxidativem Streß bei Prionkrankheiten. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Mihm B, Dr. med., Vergleichende immunhistochemische Untersuchung der Primären Angiitis des ZNS und der Arteriitis temporalis: Gemeinsame Entität oder unterschiedliche Erkrankungen? Dissertation Universität Göttingen 2004.

Dunker S, Dr. med., Bedeutung des Prionproteins in der Kalziumhomöostase zerebellärer Purkinjezellen. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Gimsa N, Dr. med. dent., Morphologische Untersuchungen von PrPSc-Ablagerungen mit dem sensitiven PET-Blot bei familiären Prionkrankheiten. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Gutenberg A, Dr. med., Die Expression von FAK und Pyk2 in Astrozytomen WHO 1-4. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Klüner C, Dr. med., Die Bedeutung der Mikroglia für den Nervenzelluntergang bei transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (Prionkrankheiten). Dissertation Universität Göttingen 2003.

Tschöke S, Dr. med., Morphologische Typisierung idiopathischer Creutzfeldt-Jakob-Krankheitsfälle anhand sensitiver PrPSc-Detektion mit der neu entwickelten PET (Paraffin-embedded-Tissue)-Blot-Methode. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Wegner C, Dr. med., Analyse von Mutationen in der neurotoxischen Domäne des Maus-Prionproteins. Dissertation Universität Göttingen 2003.

#### Preise und Auszeichnungen | Prizes and Awards

Jun. Prof. Christine Stadelmann, Sobek-Nachwuchspreis für MS-Forschung 2005

#### Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen | Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

##### Prof. Dr. W. Brück

International Society of Neuropathology  
Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie  
Neurowissenschaftliche Gesellschaft  
Editorial Board: Acta neuropathologica  
Ärztlicher Beirat DMSG

##### PD Dr. W. Schulz-Schaeffer, JunProf. Dr. Ch. Stadelmann

Deutsche Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie

##### Dr. rer. nat. H. Siebert

Neurowissenschaftliche Gesellschaft

##### PD Dr. M. Prinz

International Cytokine Society (ICS)  
International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR)  
Deutsche Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie

#### Internationale wissenschaftliche Kooperationen

##### International Scientific Cooperations

Prof. C. Lucchinetti, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA  
Prof. H. Lassmann, Institut für Hirnforschung, Wien, Österreich

#### EU-Projekte | European Research Projects

Contract LSHM-CT-2004-503039, "BrainNet Europe II", 2004-2009  
Contract LSHM-CT-2005-018637 "NeuroproMiSe", 2005-2010  
Contract QLG3-CT-2002-81030, "PrPSc-nEUROPATHWAYS" 2002-2005

#### Firmenkooperationen | Industrial Cooperations

Fa. Biogen, Fa. Serono, Fa. TEVA