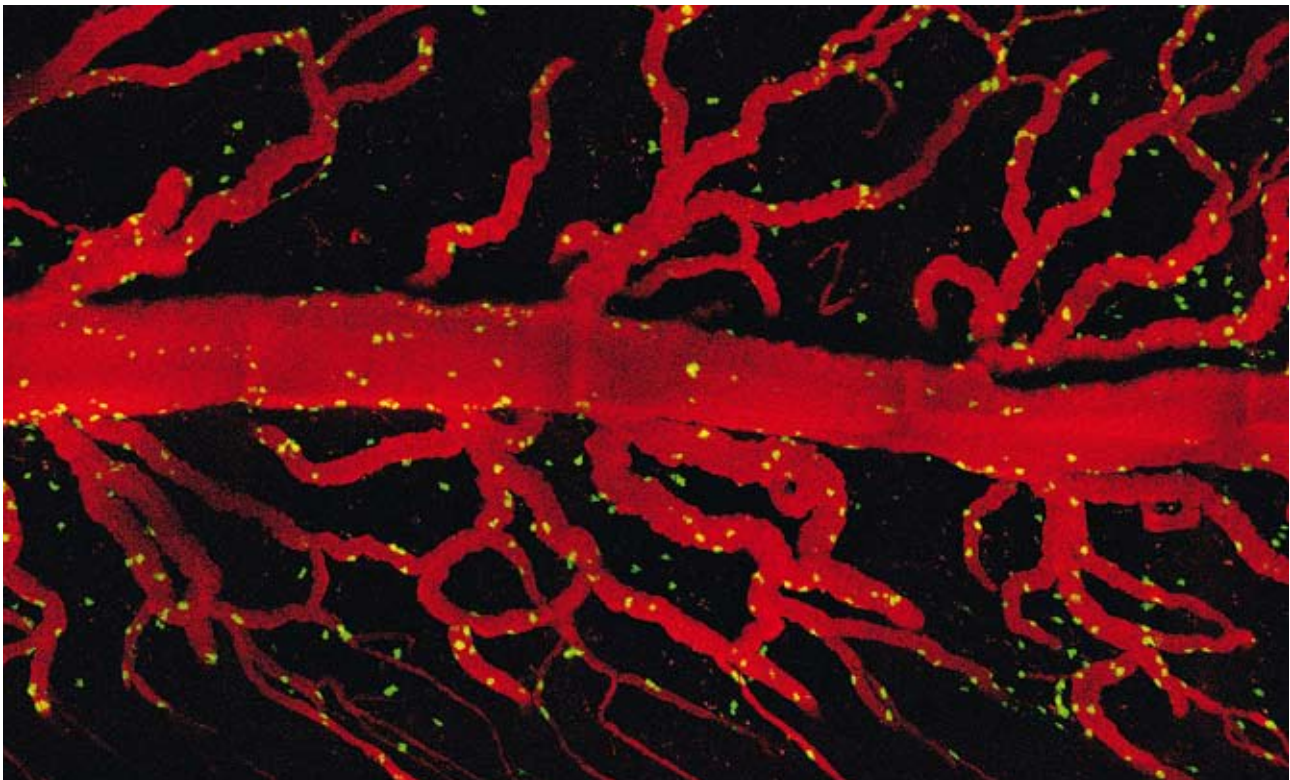


Interdisziplinäre Abteilungen
Abteilung Experimentelle Neuroimmunologie
Interdisciplinary Departments
Department of Experimental Neuroimmunology



2-Photonen-Imaging encephalitogener T-Zellen (grün) bei ihrem Durchtritt durch Gefäße des zentralen Nervensystems (rot) im präklinischen Intervall der Experimentellen Autoimmunenzephalomyelitis 2-photon-imaging of GFP-labelled encephalitogenic T- cells (green) transgressing blood vessels of the central nervous system (red) during the preclinical phase of experimental autoimmune encephalomyelitis

Forschungsschwerpunkte Research Foci

- ▷ Bedeutung von Neurotrophinen in der Neuroimmunologie
 - ▷ Neuartige Immuntherapie in experimentellen Modellen
 - ▷ Mechanismus der Wirkung von Glukokortikoiden bei der EAE
 - ▷ Zellstressmechanismen im Skelettmuskel
 - ▷ Role of neurotrophins in neuroimmunology
 - ▷ Novel immunotherapies in experimental models
 - ▷ Mechanism of glucocorticoid action in the EAE model
 - ▷ Cell stress mechanisms in skeletal muscle
-



Abteilungsdirektor Head of Department

Prof. Dr. med. Alexander Flügel

Kontaktdaten Contact

Abteilung Experimentelle Neuroimmunologie
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN
 Waldweg 33, D-37073 Göttingen
 Telefon +49-0551 / 39-13332, Fax +49-0551 / 39-13348
 imsf@med.uni-goettingen.de
 www.msforchung.med.uni-goettingen.de

Hochschullehrer/innen Professors and Lecturers

+49-551 /

Alexander Flügel	Prof. Dr. med.	fluegel@med.uni-goettingen.de	39-13331
------------------	----------------	-------------------------------	----------

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Lühder, Fred	Dr. rer. nat. habil.	fred.luehder@med.uni-goettingen.de	39-13341
Schmidt, Jens	Dr. med.	j.schmidt@med.uni-goettingen.de	39-8404
Dimitri Lodygin	Dr. rer. nat.	lodygin@med.uni-goettingen.de	39-13338
Francesca Odoardi	Dr. med.	francesca.odoardi@med.uni-goettingen.de	39-13338

EINLEITUNG

Die Ergebnisse aus Grundlagen- und klinischer Forschung haben in den letzten Jahren gezeigt, dass die Multiple Sklerose neben immunologischen auch neurodegenerative Aspekte hat. Deshalb fokussiert sich das Forschungsinteresse der Abteilung sowohl auf verbesserte Immuntherapien als auch auf die Identifikation von so genannten Suszeptibilitätsfaktoren für die Entwicklung schwerer Schäden im Nervensystem. Außerdem ist die Abteilung an der Aufklärung des Wirkmechanismus bereits in der MS-Therapie angewandter Arzneimittel sowie an der Erforschung der Pathogenese und potentieller Therapien bei entzündlich-degenerativen Muskelkrankungen interessiert.

PREFACE

Molecular and clinical research activities in multiple sclerosis have shown that pathogenesis of the disease has both immunological and neurobiological aspects. Therefore the focus of our research activities is on both topics, in particularly identifying novel immunotherapies and characterizing neurotrophins as susceptibility factors for axonal damage. Furthermore, the institute is interested in uncovering mechanisms of action of drugs which are already applied in MS therapy as well as in studying the pathogenesis and potential therapies of inflammatory-degenerative muscle disorders.

1. Rolle von Neurotrophinen in der Neuroimmunologie

Die Arbeitsgruppe befasst sich mit den molekularen Vorgängen, die zu axonalem Untergang führen. Hierbei stehen zum einen Botenstoffe im Mittelpunkt, die zu den Familien der Neurotrophine und neurotrophen Zytokine gehören. Hierfür wird ein Modell der experimentellen autoimmunen Encephalomyelitis (EAE) gewählt, bei dem C57Bl/6 Mäuse mit MOG₃₅₋₅₅ immunisiert werden und dadurch die Erkrankung ausgelöst wird.

In älteren Studien konnte gezeigt werden, dass ein Mangel an dem Nervenwachstumsfaktor „ciliary neurotrophic factor“ (CNTF) die Hülle (Myelinscheide) der Axone schwer beschädigt und schließlich zu deren Untergang führt. Darüber hinaus schwächt der CNTF-Mangel die natürlichen Reparaturvorgänge im Gehirn, da auch das Überleben und die Proliferation von Oligodendrozyten-Vorläuferzellen gestört sind. Nach Abschluss dieser Arbeiten wurde an der Erforschung der funktionalen Relevanz von anderen Neurotrophinen und neurotrophen Faktoren wie LIF (Leukemia inhibitory factor) und BDNF (Brain derived neurotrophic factor) begonnen. Dabei zeigte sich, dass LIF Einfluss auf das Immunsystem nimmt und in der EAE die priming-Phase der T Zellen beeinflusst, ihre Proliferation, Zytokin- als auch Chemokinproduktion. Die funktionelle Bedeutung von BDNF dagegen liegt wie CNTF in der axonalen Protektion, wie durch Studien in konditionalen Mutanten ermittelt werden konnte.

1. Role of neurotrophins in neuroimmunology

Our group investigates the molecular mechanisms which are associated with axonal damage and myelin pathology. In particular, growth factors belonging to the family of neurotrophic cytokines and neurotrophins are in the center of interest. As a model disease, we study the MOG₃₅₋₅₅ induced experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in C57Bl/6 mice. Previous studies showed that CNS inflammation in the setting of deficiency of the neurotrophic cytokine „ciliary neurotrophic factor“ (CNTF) leads to severe myelin pathology with increased axonal damage. Moreover, the lack of CNTF is associated with oligodendrocyte apoptosis and impaired proliferation of oligodendrocyte precursor cells. These defects result in impaired repair mechanisms in the CNS. Further studies are focused on LIF (Leukemia inhibitory factor) and BDNF (Brain derived neurotrophic factor). We could show that LIF impacts on the immune system by influencing T cell proliferation as well as cytokine and chemokine production, whereas BDNF mainly influences axonal survival and is neuroprotective as evidence in studies of conditional knock-out mice. (Cre-loxP system).

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. rer. nat. Fred Lühder

Dr. med. Ralf Linker

Kooperationen Cooperations

Prof. Sendtner, Institut für klinische Neurobiologie, Medizinische Fakultät Universität Würzburg

Prof. Brück, Institut für Neuropathologie, Universitätsmedizin Universität Göttingen

Prof. Gold, St. Joseph-Hospital, Universität Bochum

Prof. Harald Neumann, Universität Bonn

Drittmittelförderung Funding

Gemeinnützige Hertie-Stiftung: Rolle des Neurotrophins BDNF für Gliose und axonalen Schaden bei entzündlichen Erkrankungen des Zentralen Nervensystems, Förderung von 2005-2007

Teva Pharma: Neuroprotektion durch Glatiramerazetat induzierte Neurotrophine bei der EAE, Förderung von 2004-2006

Stifterverband: Lentivirale Expression von Neurotrophinen in Lymphozyten und Rolle für den axonalen Schaden, Förderung 2006-2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Linker RA, Kruse N, Israel S, Wei T, Seubert S, Hombach A, Holtmann B, Lühder F, Ransohoff RM, Sendtner M, Gold R (2008) Leukemia inhibitory factor deficiency modulates the immune response and limits autoimmune demyelination: a new role for neurotrophic cytokines in neuroinflammation. *J IMMUNOL*, 180(4): 2204-13.

Kruse N, Cetin S, Chan A, Gold R, Lühder F (2007) Differential expression of BDNF mRNA splice variants in mouse brain and immune cells. *J NEUROIMMUNOL*, 182(1-2): 13-21.

Gold R, Linington C, Lassmann H (2006) Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *BRAIN*, 129(Pt 8): 1953-71.

2. Neuartige Immuntherapie in experimentellen Modellen

Trotz Verbesserung der therapeutischen Möglichkeiten bei Multipler Sklerose lässt sich die Erkrankung in vielen Fällen nicht ausreichend gut beeinflussen. Nachdem neue Forschungsergebnisse zeigten, dass regulatorische T-Zellen zur Ausbildung eines immunologischen Gleichgewichtes beitragen, haben wir dies genutzt, um mittels sogenannter superagonistischer Antikörper gegen CD28 die Immunregulation im experimentellen Modell der EAE wieder herzustellen. Damit gekoppelt sind auch immunbiologische Arbeiten zu der Generierung regulatorischer T-Zellen.

Als neuartige Zugänge zur Therapie wurden auch Fumarsalze charakterisiert. Durch diese konnte im Modell der Maus EAE die Krankheit effizient therapiert werden und vor allem die Einwanderung von destruktiv wirkenden Makrophagen deutlich reduziert werden.

Ein weiteres Projekt beschäftigt sich mit der Rolle von plasmazytoiden dendritischen Zellen, die in einer Verbundforschung des BMBF mit der Neurologischen Universitätsklinik Würzburg und der Neurologischen Universitätsklinik Lodz, Polen, charakterisiert werden. Hier gelang es bereits, bei MS Patienten eine Defizienz im Bereich der plasmazytoiden dendritischen Zellen nachzuweisen, mit der Option, dies therapeutisch zu beeinflussen.

Unter dem Aspekt der verbesserten therapeutischen Nutzung von Glukokortikosteroiden haben wir frühere Forschungsarbeiten fortgeführt, indem liposomal verpackte Steroide in experimentellen Modellen einschließlich kernspintomographischer Untersuchungen im Detail charakterisiert werden.

2. Novel immunotherapies in experimental models

Despite considerable progress in the therapy of MS, therapeutic efficacy remains incomplete in many cases. After the demonstration of the importance of regulatory T-cells in the immunological network we have used the approach of generation of regulatory T-cells by administration of superagonistic anti-CD28 antibodies to restore immunoregulation in EAE. These studies are accompanied by immunobiological studies on the generation of regulatory T-cells.

As novel therapeutic agents fumaric acid esters were used. These exhibit considerable clinical efficacy in EAE and diminish especially infiltration of destructive macrophages.

Another project deals with the role of plasmacytoid dendritic cells, that were characterized in a BMBF network in cooperation with the Dept. of neurology, University of Würzburg and the Dept. of neurology, University of Lodz, Poland. Here, we could already demonstrate a deficiency with plasmacytoid dendritic cells in MS patients, which renders a potential therapeutic target.

With the aim of optimized therapeutic usage of glucocorticosteroids we have continued previous studies and characterized liposomal steroids in experimental models including magnetic-resonance imaging.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. rer. nat. Fred Lühder

Dr. rer. nat. Niels Kruse

Kooperationen Cooperations

Dr. Bart Metselaer, Pharmakologisches Institut der Universität Utrecht, Niederlande

Prof. Hünig, Institut für Immunbiologie der Universität Würzburg

Drittmittelförderung Funding

Gemeinnützige Hertie-Stiftung: Liposomenprojekt, Untersuchung von liposomalen Steroiden bei der EAE, Förderung von 2004-2006

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Linker RA, Weller C, Lühder F, Mohr A, Schmidt J, Knauth M, Metselaer JM, Gold R (2008) Liposomal glucocorticosteroids in treatment of chronic autoimmune demyelination: long-term protective effects and enhanced efficacy of methylprednisolone formulations. *EXP NEUROL*, -: -.

Dennehy KM, Elias F, Na SY, Fischer KD, Hünig T, Lühder F (2007) Mitogenic CD28 Signals Require the Exchange Factor Vav1 to Enhance TCR Signaling at the SLP-76-Vav-1tk Signalingosome. *J IMMUNOL*, 178(3): 1363-71.

Dennehy KM, Elias F, Zeder-Lutz G, Ding X, Altschuh D, Lühder F, Hünig T (2006) Cutting edge: monovalency of CD28 maintains the antigen dependence of T cell costimulatory responses. *J IMMUNOL*, 176(10): 5725-9.

Schilling S, Goetz S, Linker R, Luehder F, Gold R (2006) Fumaric acid esters are effective in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis and suppress macrophage infiltration. *CLIN EXP IMMUNOL*, 145(1): 101-7.

Stasiolek M, Bayas A, Kruse N, Wiczarkowicz A, Toyka KV, Gold R, Selmaj K (2006) Impaired maturation and altered regulatory function of plasmacytoid dendritic cells in multiple sclerosis. *BRAIN*, 129(Pt 5): 1293-305.

Tischner D, Weishaupt A, van den Brandt J, Müller N, Beyersdorf N, Ip CW, Toyka KV, Hünig T, Gold R, Kerkau T, Reichardt HM (2006) Polyclonal expansion of regulatory T cells interferes with effector cell migration in a model of multiple sclerosis. *BRAIN*, 129(Pt 10): 2635-47.

3. Mechanismus der Wirkung von Glukokortikoiden bei der EAE

Glukokortikoide (GC) werden seit Jahrzehnten in der MS-Therapie verwendet, jedoch ist ihr Wirkmechanismus nicht vollständig geklärt. Es gibt zahlreiche Hypothesen, die Wirkungen auf Elemente des Immunsystems, die Blut-Hirn-Schranke sowie direkte Wirkungen im ZNS postulieren. Um einen genaueren Einblick zu erhalten, wurden 2 Modelle generiert: die transgene Expression eines Glukokortikoidrezeptors (GR) mit einer höheren Affinität in Lewis-Ratten sowie die Behandlung des C57Bl/6 Modells mit GC. Im ersten Modell kam es zu einer massiven Apoptoseinduktion während der T Zellentwicklung im Thymus. Die Suszeptibilität der transgenen Ratten gegenüber einer durch MBP induzierten EAE war deutlich herabgesetzt, was auf die Verschiebung der T Zellantwort von Th1 zugunsten von Th2 zurückgeführt werden konnte.

Im 2. Modell konnte gezeigt werden, dass GC sowohl präventiv als auch therapeutisch in diesem Modell wirksam sind. Dabei wirken sie vor allem auf periphere T Zellen und verhindern den Nachstrom dieser Zellen in das ZNS, wodurch die klinischen Symptome deutlich gebessert werden.

3. Mechanism of glucocorticoid action in the EAE model

Glucocorticoids (GC) are used in the clinical practice since decades, but their exact mechanism of action remains elusive. There are numerous hypotheses concerning their action on immune cells, the blood-brain-barrier and the CNS directly. To elucidate their mode of action in more detail, we generated 2 models: first the generation of a transgenic Lewis rat expressing a glucocorticoid receptor with higher affinity, and second the treatment of the C57Bl/6 EAE mouse model with GC. In the first model, it turned out that massive apoptosis of thymocytes was induced during T cell development and that the susceptibility of the transgenic rats for EAE was reduced, due to a shift from Th1 to Th2 T cell responses. In the second model, GCs proved effective in the treatment of EAE both in a preventive and therapeutic setting. It could be shown that the main mechanism of action was influencing the peripheral T cells, resulting in reduced influx into the CNS and therefore amelioration of clinical symptoms.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. rer. nat. Fred Lühder

Kooperationen Cooperations

Dr. Bart Metselaer, Pharmakologisches Institut der Universität Utrecht, Niederlande

Prof. Holger Reichardt, Institut für Immunologie, Universität Göttingen

Dr. Jan Tuckermann, Leibniz-Institut Jena

Drittmittelförderung Funding

Gemeinnützige Hertie-Stiftung: Analysis of cell-type-specific glucocorticoid actions in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) using site- and function-selective GR mutant mice, 2006-2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Wüst S, van den Brandt J, Tischner D, Kleiman A, Tuckermann JP, Gold R, Lühder F, Reichardt HM (2008) Peripheral T cells are the therapeutic targets of glucocorticoids in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J IMMUNOL*, 180(12): 8434-43.

van den Brandt J, Lühder F, McPherson KG, de Graaf KL, Tischner D, Wiehr S, Herrmann T, Weissert R, Gold R, Reichardt HM (2007) Enhanced glucocorticoid receptor signaling in T cells impacts thymocyte apoptosis and adaptive immune responses. *AM J PATHOL*, 170(3): 1041-53.

Reichardt HM, Gold R, Lühder F (2006) Glucocorticoids in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Expert Rev Neurother*, 6(11): 1657-70.

4. Zellstressmechanismen im Skelettmuskel

Bei Schädigung von Skelettmuskelfasern kommt es zu einer intrazellulären Zellstresskaskade, die zum einen die Regeneration fördern kann, jedoch zum anderen auch eine chronische Entzündung mit zusätzlicher Schädigung bedingen kann. Wir untersuchen die Grundlagen intrazellulärer Stressmechanismen in Muskelzellen. Hierbei kommen verschiedene Modelle *in vitro* (Myotuben, Myoblasten, Adenovirus-vermittelte Überexpression bzw. Genblockade mittels siRNA) und *in vivo* (Mausmodell der Einschlusskörpermyositis, experimentelle autoimmune Myositis, iNOS-defiziente Maus, mdx-Maus) zur Anwendung. Es stehen vor allem Moleküle

wie Stickoxid (NO), *receptor for advanced glycation end products* (RAGE), *high mobility group box* (HMGB) sowie Hitzeschockproteine wie α B-Crystallin im Vordergrund. Wir konnten zeigen, dass es bei der Einschlusskörpermyositis auch zu einem autophagischen Mechanismus kommt, der über eine Prozessierung des *amyloid-precursor-protein* (APP) die Degeneration im Muskel verstärken kann. Dieser Mechanismus wird auch in Zusammenhang mit Zelltod und entzündlichem Zellstress weiter untersucht.

4. Cell stress mechanisms in skeletal muscle

Damage of skeletal muscle fibers induces intracellular cell stress, which may enhance regeneration, but can also cause additional injury. We investigate basic intracellular stress mechanisms in muscle cells. We use various models *in vitro* (myotubes, myoblasts, adenoviral-mediated overexpression or gene silencing by siRNA) and *in vivo* (mouse models of inclusion body myositis, experimental autoimmune myositis, iNOS-deficient mice, mdx-mice). We are particularly interested in molecules such as nitric oxide (NO), receptor for advanced glycation end products (RAGE), high mobility group box (HMGB) as well as heat shock proteins such as α B-crystallin. We could demonstrate that, in sporadic inclusion body myositis, macroautophagic processing is present, which can aggravate degeneration of the muscle by processing of amyloid-precursor-protein (APP). This mechanism will be further analyzed in the context of cell death and inflammatory cell stress.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. med. Jens Schmidt

Kooperationen Cooperations

Prof. S. Zierz, Neurologie, Universität Halle

PD Dr. S. Roßner, Biochemie, Universität Leipzig

PD Dr. C. Schneider-Gold, Neurologische Klinik, Universität Bochum

Dr. O. Wirths, Mol. Psychiatrie, Universitätsmedizin Göttingen

Dr. M. Schmitz, Prof. I. Zerr, Neurologie, Universitätsmedizin Göttingen

Dr. A. Wrede, Prof. W. Brück, Neuropathologie, Universitätsmedizin Göttingen

Dr. L. Klinge, Pädiatrie, Universitätsmedizin Göttingen

PD Dr. D. Liebetanz, Klin. Neurophysiologie, Universitätsmedizin Göttingen

Prof. M.C. Dalakas, Imperial College, London, UK

Prof. C. Münz, Dr. J. Lünemann Neuroimmunologie, Universität Zürich, CH

PD Dr. R. Voll, Innere Medizin, Universität Erlangen

Prof. Dr. I. Nishino, Neuromuscular Center, Tokyo, Japan

Dr. M. Kitazawa, Prof. F. La Ferla, Biological Sciences, UC Irvine, CA, USA

Drittmittelförderung Funding

Association Française Contre les Myopathies (AFM) „Molecular interactions of β -amyloid-associated cell-stress and inflammation in human cells“ 2006-2007, AFM „Inflammatory cell-stress and its implications for accumulation of β -amyloid in skeletal muscle“ (seit 2008)

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Lünemann JD, Schmidt J, Schmid D, Barthel K, Wrede A, Dalakas MC, Münz C (2007) Beta-amyloid is a substrate of autophagy in sporadic inclusion body myositis. *ANN NEUROL*, 61(5): 476-83.

Anhang Appendix

Erteilte Rufe (angenommen/abgelehnt)

Awarded Appointments (accepted/rejected)

Lehrstuhl für Neurologie der Ruhr-Universität Bochum, Sankt Josef-Hospital Bochum für Prof. Gold, akzeptiert im April 2006

Habilitationen

Dr. rer. nat. habil. Fred Lühder, Institut für MS-Forschung, habilitiert mit der Arbeit „Regulation von T Zellantworten gegen körpereigene und Tumorantigene durch Antigenpräsentation und Kostimulation“ an der Universität Würzburg 2008

Chan A, T-Zell-Apoptose und Phagozytose durch gliale Zellen im entzündeten zentralen Nervensystem: funktionelle Relevanz und therapeutische Implikationen. Habilitation Universität Göttingen 2006.

Diplom- und Masterarbeiten Diploma and Master Theses

Geyer E, Dipl.-Biol., Tamoxifen-induzierte Deletion von Genen mit Relevanz für die EAE. Diplomarbeit Universität Göttingen 2008.

Frau Cand. med. Charlotte Weller, Institut für MS Forschung, Masterstudiengang Molekulare Medizin „Steroid Liposome bei EAE“, Göttingen 2006

Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

Symposium „MS und Epilepsie“, 26. November 2006

Ausrichter: Institut für MS-Forschung der Universität Göttingen, Universitätsmedizin und die Epilepsieklinik Bethel, Bielefeld; Ort: Bielefeld

Symposium „Immunological basis of disease“, 3.-5.11.2006, 1st Göttingen-Bochum Meeting

Ausrichter: Institut für MS-Forschung der Universität Göttingen, Ort: Volpriehausen

Preise und Auszeichnungen Prizes and Awards

PD Dr. Chan, Habilitationspreis der Universitätsmedizin Göttingen 2006

Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

Fachgutachtertätigkeit für Britische MS-Gesellschaft, Dr. Lühder

Fakultätsinterne Förderung Internal Faculty Funding

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2005, „Die Bedeutung des Transkriptionsfaktors NF- κ B in T-Zellen für Autoimmunität im zentralen Nervensystem“ (Ralf Linker)

Rückkehrerfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2005, „Molekulare Interaktion entzündlicher und degenerativer Mechanismen in Muskelzellen als pathogenetische Grundlage der Einschlusskörperchenmyositis“ (Jens Schmidt)