

Jan Bolz

Dr. med.

## **The role of niche components in subventricular zone neural stem cell ageing**

Fach/Einrichtung: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktormutter: Prof. Dr. Ana Martin-Villalba

Adulte Neurogenese findet lebenslang in zwei verschiedenen Bereichen des Gehirns von Säugetieren statt. Diese sogenannten neurogenen Nischen sind die subventrikuläre Zone an der Wand des lateralen Ventrikels und die subgranuläre Zone im gyrus dentatus des Hippocampus. Adulte neuronale Stammzellen in der subventrikulären Zone teilen sich und produzieren Neuronen für den bulbus olfactorius. Neuronale Stammzellen und ihre Nachkommen sind stark vom Milieu der Nische abhängig. Zelluläre Komponenten der neurogenen Nische, wie Mikroglia und Endothelzellen, und nicht-zelluläre Komponenten, wie der Liquor, beeinflussen die Stammzell-Linie und sind für die Neurogenese von Bedeutung.

Das Altern geht mit einer proinflammatorischen Umgebung einher und beeinflusst mehrere Gewebe, einschließlich der subventrikulären Zone, negativ. Mit zunehmendem Alter nimmt die Anzahl der neuronalen Stammzellen, ebenso wie die Produktion von Nervenzellen, ab. Die Struktur der subventrikulären Nische und ihrer Komponenten wird durch den Alterungsprozess deutlich verändert.

Ziel dieser Studie war es, die Alterung neuronaler Stammzellen und die Rolle der Nischenkomponenten in diesem Prozess bei Nagetieren zu untersuchen. Die Studie konzentriert sich insbesondere auf den altersbedingten Einfluss von Mikroglia und Endothelzellen auf die Aktivierung neuronaler Stammzellen und den Inflammationszustand der neurogenen Nische. Außerdem wurde versucht, Inflammation *in vivo* zu unterdrücken, um die Neurogenese zu verbessern.

Die Aktivierung neuronaler Stammzellen nach Behandlung mit einem alkylierenden Zytostatikum wurde *in vivo* in unterschiedlichen Altersgruppen untersucht, die Reduktion der Anzahl neuronaler Stammzellen im Alter wurde bestätigt und Aktivierungsdefizite, die mit dem Alterungsprozess einher gehen, wurden entdeckt.

Der Einfluss von Mikroglia und Endothelzellen auf den Inflammations- und Aktivierungszustand der neuronalen Stammzellen wurde in Kokultur und mit konditioniertem Medium von Mikroglia und Endothelzellen untersucht. In den *in-vitro*-Experimenten wurde kein altersabhängiger Einfluss der Mikroglia und Endothelzellen auf den Aktivitäts- oder Inflammationszustand der Stammzellen nachgewiesen. Die Kokultur von Endothelzellen mit neuronalen Stammzellen führte jedoch zu einer altersunabhängigen Induktion einer Interferon-Antwort in neuronalen Stammzellen.

Diese Ergebnisse bedeuten nicht unbedingt, dass es keine altersbedingten Unterschiede bezüglich des Einflusses von Nischenzellen auf neuronale Stammzellen gibt, da die Kultivierung *in vitro* altersabhängige Effekte überdecken könnte. Daher wurde die endotheliale Alterung *in vitro* künstlich imitiert. Vermehrte Inflammation ist kennzeichnend für den Alterungsprozess und andere Studien berichten von einer erhöhten Inflammationsreaktion in alten Endothelzellen der subventrikulären Zone. Daher wurden Endothelzellen mit Typ-I-Interferonen stimuliert, um *in vitro* einen homogenen Inflammationszustand zu induzieren.

Konditioniertes Medium von Endothelzellen reduzierte die Stammzellproliferation in einer wachstumsfördernden Umgebung und dieser Effekt wurde mit Medium von Interferon behandelten Endothelzellen verstärkt. Die direkte Behandlung neuronaler Stammzellen mit Typ-I-Interferonen reduzierte ebenfalls deren Proliferation. Die Kokultur von neuronalen Stammzellen mit Interferon-stimulierten Endothelzellen führte zu einer erhöhten Expression von Interferon-Antwortgenen in den Stammzellen.

Die *in-vitro*-Experimente zeigen, dass neuronale Stammzellen empfindlich auf Inflammation reagieren und dass inflammatorische Botenstoffe entweder direkt auf neuronale Stammzellen wirken oder deren Wirkung indirekt durch benachbarte Endothelzellen vermittelt werden kann. Ob die beschriebenen Effekte interferonstimulierter Gefäßzellen auf die Stammzellproliferation und den Inflammationszustand *in vivo* gleichermaßen deutlich werden und ob sie für den Alterungsprozess von Bedeutung sind, könnte eine Fragestellung für zukünftige Studien sein.

Inflammation spielt eine wichtige Rolle für den Alterungsprozess und die Liquorproteomanalyse in dieser Studie zeigt, dass Liquor empfindlich auf altersbedingte Inflammation reagiert. Die Liquoranalyse ergab, dass Proben von alten Tieren heterogener in ihrer Zusammensetzung sind und dass inflammatorische Proteine im Vergleich zu Liquorproben von Jungtieren vermehrt vorhanden sind.

Darüber hinaus wurden Versuche unternommen, die Neurogenese *in vivo* zu verbessern. Um den Einfluss einer dauerhaft veränderten Stressantwort auf neurale Stammzellen zu untersuchen, wurde die Neurogenese bei gealterten transgenen Mäusen untersucht, bei denen die c-Jun-Phosphorylierung beeinträchtigt ist. c-Jun ist ein wichtiger Bestandteil des Aktivator-Protein-1-Komplexes und unter anderem an der zellulären Stressantwort beteiligt. Die Phosphorylierung erhöht die c-Jun-Aktivität und die transgenen Mäuse hatten daher eine eingeschränkte c-Jun-Aktivierung. Gealterte transgene Mäuse zeigten weder Unterschiede in der Produktion von Neuroblasten im bulbus olfactorius noch in der Anzahl der ruhenden Stammzellen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen. In einem zweiten Versuch wurde die Inflammation durch Injektion von Interferon-Alpha-Rezeptor-Antikörpern in das Ventrikelsystem alter Mäuse gezielt angegangen, jedoch wurde kein signifikanter Anstieg der proliferierenden Zellen in der subventrikulären Zone festgestellt.

Wenngleich die in dieser Arbeit vorgestellten Ansätze zur Verbesserung der Neurogenese im Alter nicht erfolgreich waren, führten anti-inflammatorische Maßnahmen gegen andere Zielstrukturen zu einer Aktivierung alter neuronaler Stammzellen.