
Aus dem Charité Centrum 2 für Grundlagenmedizin
Institut für Zell- und Neurobiologie, Centrum für Anatomie
Charité Campus Mitte
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Direktor: Prof. Dr. Robert Nitsch

Habilitationsschrift

Neuroimmunologie der axonalen Regeneration

zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach
Anatomie und Zellbiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät der
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von
Dr. med. Sven Hendrix (geb. Müller-Röver)
Geboren am 12.11.1968 in Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

Datum der Habilitation: 26.07.2007

Gutachter:
1. Prof. Dr. med. Martin Schmelz
2. Prof. Dr. med. Jürgen Westermann

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung

- 1.1 Immunologie der Nervenläsion im peripheren Nervensystem
- 1.2 Die Rolle der Neurotrophine in der axonalen Regeneration
- 1.3 Immunologie der Nervenläsion im zentralen Nervensystem
- 1.4 Zytokine und Neurotrophine als Schnittstelle neuro-immuner Interaktionen bei der axonalen Regeneration

2 Zusammenfassung der eigenen Arbeiten

- 2.1 Der physiologische Umbau der Rückenhaut von Mäusen ist während der Morphogenese und in der Adoleszenz zeitlich und örtlich streng reguliert

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.1](#)

Müller-Röver S, Rossiter H, Paus R, Handjiski B, Peters EJM, Murphy JE, Mecklenburg L, Kupper TS: Overexpression of bcl-2 protects from UVB-induced apoptosis, but promotes hair follicle regression and chemotherapy-induced alopecia. Am J Pathol, 156:1395-1405, 2000

- 2.2 Innervation und Neurotrophinexpression in der murinen Rückenhaut sind postnatal plastischen Veränderungen unterworfen

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.2.A](#)

Müller-Röver S, Botchkarev VA, Peters EJM, Panteleyev A, Paus R: Distinct patterns of NCAM expression are associated with defined stages of murine hair follicle morphogenesis and regression. J Histochem Cytochem 46:1401-1410, 1999

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.2.B](#)

Peters EMJ, Botchkarev VA, **Müller-Röver S**, Moll I, Rice FL, Paus R: Developmental timing of hair follicle and dorsal skin innervation in mice. J Comp Neurol 448(1): 28-52. 2002

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.2.C](#)

Peters EMJ, **Hendrix S**, Götz G, Klapp BF, Arck PC, Paus R: Nerve Growth Factor and its Precursor Differentially Regulate Hair Cycle Progression in Mice. J Histochem Cytochem, 54(3):275-88, 2006

- 2.3 Das Immunsystem der Haut zeigt zyklische Schwankungen in Abhängigkeit vom Umbau der Haut

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.3](#)

Müller-Röver S, Bulfone-Paus S, Handjiski B, Welker P, Sundberg JP, McKay IA, Botchkarev VA, Paus R: Intercellular Adhesion Molecule-1 and Hair Follicle Regression. J Histochem Cytochem, 48: 557–568, 2000

-
- 2.4 Zytokine beeinflussen die Expression von Neurotrophinen und ihres Rezeptors p75NTR in der Haut

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.4](#)

Bläsing H*, **Hendrix S***, Paus R: Pro-inflammatory cytokines upregulate the skin immunoreactivity for NGF, NT-3, NT-4 and their receptor, p75NTR in vivo. Arch Dermatol Res 296:580-584, 2005
*gleichberechtigt

- 2.5 Zytokine beeinflussen Neurotrophin-abhängiges Axonwachstum nach Läsion des peripheren Nervensystems

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.5](#)

Gölz G, Uhlmann L, Lüdecke D, Markgraf N, Nitsch R, **Hendrix S**: The cytokine/neurotrophin axis in peripheral axon outgrowth. Eur J Neurosci, doi:10.1111/j.1460-9568.2006.05155.x

- 2.6 T-Helfer-Zellen stimulieren die axonale Regeneration im zentralen Nervensystem durch Interleukin-4

[Zusammenstellung wesentlicher Publikationen – Beitrag 2.6](#)

Hendrix S, Hechler D, Sallach S, Lüdecke D, Gölz G, Brandt C, Kammertöns T, Blankenstein T, Lühder F, Gold R, Schnell L, Schwab M, Siffrin V, Zipp F, Nitsch R: T helper cells stimulate neurotrophin-dependent axonal outgrowth via interleukin-4. 2006, eingereicht.

3 **Diskussion**

- 3.1 Die Zytokin/Neurotrophin-Achse in der axonalen Regeneration des peripheren Nervensystems
- 3.2 Die Zytokin/Neurotrophin-Achse in der axonalen Regeneration des zentralen Nervensystems
- 3.3 Therapeutische Perspektiven

4 **Zusammenfassung**

5 **Literaturverzeichnis**

Tierversuchsgenehmigungen

Danksagungen

Eidesstattliche Erklärung

Zusammenfassung

In den hier vorgestellten Studien konnten wir zeigen, dass die Haut hochkontrolliert sich wiederholende Zyklen von Wachstum, Regression und Ruhe durchläuft (92, 93). Dieser physiologische Umbau geht einher mit dramatischen strukturellen Veränderungen, die alle Zelltypen und Kompartimente der Haut betreffen einschließlich Vaskularisierung (95), Innervation und Neurotrophin-Millieu (90, 91, 102, 112) sowie wichtige Aspekte des Immunsystems (87, 96, 103, 107, 108, 110, 111, 115). Sowohl die physiologische als auch die Entzündungs-assoziierte neuronale Plastizität der Haut werden wiederum stark durch psycho-emotionalen Stress beeinflusst (112). Wir konnten darüber hinaus zeigen, dass die pro-inflammatorischen Zytokine IL-1 β , TNF α und IFN γ sowie ein Cocktail dieser drei Zytokine die NGF-, NT-3-, NT-4 und p75NTR-Expression in epithelialen und mesenchymalen Zellpopulationen der Haut hochreguliert (85).

Auf diesen Daten aufbauend untersuchten wir die Hypothese, ob die im Rahmen der Axotomie hochregulierten Zytokine IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF α und IFN γ primär Neurotrophin-abhängiges Axonwachstum modulieren (86). Es zeigte sich, dass durch rekombinante Neurotrophine induziertes axonales Auswachsen durch alle untersuchten Zytokine außer durch IL-1 β moduliert wurde. IL-6 und IFN γ steigerten die Neurotrophin-abhängige Neuriten-Extension, während TNF α einen inhibierenden Einfluss hatte. IL-4 hatte einen dosisabhängigen Effekt: in niedriger Konzentration inhibierte und in hoher Konzentration förderte es NT-4-abhängiges Axonwachstum (86). Dies ist der erste Hinweis, dass das T-Zell-Zytokin IL-4 einen förderlichen Einfluss auf axonales Auswachsen hat. Schließlich konnten wir zeigen, dass T-Helfer-Zellen via IL-4 eine entscheidende Rolle bei der axonalen Regeneration nach mechanischer ZNS-Schädigung spielen (64). Aktivierte Th2-Zellen fördern über IL-4 signifikant das Neurotrophin-abhängige axonale Auswachsen nach entorhinaler Kortex-Läsion *in vitro* und *in vivo* sowie nach einer Kontusionsverletzung des Rückenmarks in Mäusen. Dies ist der erste formale Beleg, dass Th2-Zellen durch ihr Marker-Zytokin IL-4 Neurotrophin-abhängiges axonales Auswachsen nach ZNS-Läsion fördern (64).

Die hier zusammengefassten Arbeiten sind ein klarer Hinweis darauf, dass die Zytokin/Neurotrophin-Achse in der neurowissenschaftlichen Forschung ein attraktives und neues pharmakologisches Ziel darstellt, um die Wundheilung und die axonale Regeneration nach traumatischer Schädigung des PNS und ZNS zu fördern.

Abkürzungsverzeichnis

Bcl-2	B-cell lymphoma-2
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
GDNF	Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor
GFRa-1, -2	GDNF family receptor a-1, -2
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
IL	Interleukin
INF- γ	Interferon-gamma
MAF	Macrophage/Microglia Activation Factor
NCAM	Neural Cell Adhesion Molecule
NGF	Nerve Growth Factor
NT-3/-4	Neurotrophin-3/-4
NTN	Neurturin
p75NTR	p75 Neurotrophin Receptor
PNS	Peripheres Nervensystem
Th1, Th2	T-Helferzell-Subtyp 1, 2
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-alpha
Trk-A, -B, C	Tropomyosin-Related Kinase-A, -B, -C
UVB	Ultraviolett-B
ZNS	Zentrales Nervensystem

Tierversuchsgenehmigungen

Zur Durchführung der Tierversuche an der Universitätshautklinik Hamburg Eppendorf, Universität Hamburg bzw. an der Hautklinik der Freien Universität Berlin lagen die Genehmigungen der lokalen Behörden durch den Projektleiter Prof. Dr. Ralf Paus vor.

Für die Tierversuche, die in Kooperation durchgeführt wurden, lag eine Genehmigung des jeweiligen Kooperationspartners vor.

Für die Versuche, die in Berlin von Dr. Hendrix als verantwortlicher Versuchsleiter oder als Stellvertreter von Prof. Nitsch durchgeführt wurden, lagen Genehmigungen der lokalen Behörde (Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit [LaGetSi], Berlin) vor.

Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Robert Nitsch, dem ich neben den stets überaus produktiven, konstruktiven und inspirierenden wissenschaftlichen Diskussionen, großzügige Unterstützung und vor allem die Bereitstellung exzellenter Arbeitsbedingungen für die Verwirklichung meiner Forschungsvorhaben zu verdanken habe.

Prof. Dr. Ralf Paus, Universitätshautklinik Lübeck, möchte ich dafür danken, dass er in mir das leidenschaftliche und selbstständige Interesse an der Neuroimmunologie der Haut und an der Wissenschaft im allgemeinen geweckt und gefördert hat.

Dr. Eva Peters, AG Psychoneuroimmunologie, Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik, Charité - Universitätsmedizin Berlin, bin ich für Ihre Kollegialität und Freundschaft, viele inspirierende Diskussionen und große Produktivität in diversen gemeinsamen Projekten zu tiefem Dank verpflichtet.

Prof. Dr. Thomas Kupper, MD, PhD, Harvard Skin Disease Research Center, Harvard Medical School, Boston, USA, möchte ich für die Möglichkeit danken, den offenen Geist und die Produktivität der amerikanischen Wissenschaftswelt kennen zu lernen.

Prof. Dr. Yoshiki Tokura und Prof. Dr. Takigawa, Department of Dermatology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan, möchte ich danken für die Möglichkeit, den Pragmatismus und die Effektivität der japanischen Wissenschaftswelt kennen zu lernen.

Dr. Michael P. Philpott and Prof. Dr. Irene Leigh, Centre for Cutaneous Research, University of London, London, Großbritannien, gilt mein Dank für viele instruktive Erfahrungen in der Biotechnologie-Forschung.

Ebenso geht mein großer Dank an die zahlreichen Kollegen, die meinen Weg unterstützend begleiteten. Stellvertretend seien Prof. Dr. Marcus Maurer und Dr. Markus Magerl, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin; Ruth Plieth und Evelyn Hagen, inzwischen in der AG Psychoneuroimmunologie, BMFZ, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Prof. Dr. Vladimir Botchkarev, Dermatologie, Boston University Medical School, Boston, USA,

und Dr. Andreas Winkelmann, Centrum für Anatomie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, für ihre Kollegialität und Freundschaft genannt.

Mein Dank geht außerdem an die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bonn, die meine Forschungsbemühungen im Rahmen des SFB507B11 und des Graduiertenkollegs 1258 förderte.

Bedanken möchte ich mich ferner bei meinen Mitarbeitern und Doktoranden, Greta Gölz, Daniel Hechler, Peter Kramer, Doreen Lüdecke, Nora Markgraf, Björn Picker, Stephanie Sallach und Katharina Warnke, die durch Ihre Kreativität und harte Arbeit die vorliegenden Studien möglich gemacht haben.

Und schließlich danke ich von ganzem Herzen meiner Frau Els Hendrix für ununterbrochene Unterstützung.

Eidesstattliche Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- **weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,**
- **welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,**
- **die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.**
- **mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.**

.....

Datum

.....

Unterschrift