
3. Diskussion

In den vergangenen Jahren haben wir systematisch die neuroanatomischen und neuroimmunologischen Verhältnisse in der Haut von Mensch und Maus charakterisiert (87-92, 94-113). Exemplarisch wurden hier die [Beiträge 2.1, 2.2A, 2.2B, 2.2C und 2.3](#) vorgestellt.

Auf diesen Daten aufbauend wurde dann die Interaktion von Zytokinen und Neurotrophinen in der Homöostase der Haut ([Beitrag 2.4](#)) sowie in der axonalen Regeneration im PNS ([Beitrag 2.5](#)) und im ZNS untersucht ([Beitrag 2.6](#)). Diese Arbeiten geben erste Hinweise darauf, dass die axonale Regeneration nach Nervenschädigung im PNS und ZNS über eine Zytokin/Neurotrophin-Achse reguliert wird, die dadurch eine zentrale Bedeutung für die Entwicklung pharmakologischer Interventionen zur Verbesserung der axonalen Regeneration im PNS und ZNS erlangt.

3.1. Die Zytokin/Neurotrophin-Achse in der axonalen Regeneration des peripheren Nervensystems

Die Haut durchläuft hochkontrolliert sich wiederholende Zyklen von Wachstum, Regression und Ruhe (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 die wichtigsten Aspekte des Immunsystems (87, 96, 103, 106-108, 110-112, 114, 115).

Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass Neurotrophine und proinflammatorische Zytokine nicht nur eine entscheidende funktionelle Rolle in der Morphogenese der Haut sondern auch beim physiologischen Umbau der Haut sowie bei Haut- und Haarerkrankungen spielen (59, 116-121). Trotzdem gibt es bisher kaum Studien, die die Interaktion von Zytokinen und Neurotrophinen in der Haut analysiert haben.

IFN- γ , IL-1 β und TNF- α sind wichtige pro-inflammatorische Zytokine und potente und Haarwachstumshemmer. Gesteigerte Level von IFN- γ und IL-1 β wurden z. B. in unbehandelten Alopecia-areata-Läsionen beschrieben (116, 117). Mehrere *in-vitro*-Studien deuten darauf hin, dass die pro-inflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-6, IFN- γ und TNF- α die Expression oder Funktion von Neurotrophinen und deren

Rezeptoren in den verschiedensten Zelltypen modulieren wie z. B. in Astrozyten (66-73), Neuroblastom-Zellen (74, 75), Spinalganglien-Neuronen (76), Schwannzellen (77), peripheren Blutmonozyten (78) und Fibroblasten (79-83). In einer humanen *in vivo*-Studie wurde IFN- γ in die Haut von gesunden Probanden injiziert, was zu Anstieg der NT-4-Immunoreaktivität in den entnommenen Hautbiopsien führte (84). Wir konnten im Maussystem zeigen, dass die Expression von Neurotrophinen und ihren Rezeptoren *in vivo* durch Injektion von IL-1 β , TNF α und IFN γ in epithelialen und mesenchymalen Zellpopulationen der Haut hochreguliert wird ([Beitrag 2.4](#)). Dies sind die ersten Hinweise, dass die dramatischen Effekte, die Zytokine auf die Hauthomöostase und Haarwachstum haben (59), zum Teil indirekt über eine Beeinflussung des Neurotrophin-Signalling vermittelt werden könnten. Somit eröffnet sich ein völlig neues Forschungsfeld, da immunoregulatorische Medikamente, die in der Behandlung entzündlicher Hauterkrankungen eingesetzt werden, durchaus einen bedeutenden Einfluss auf das kutane Neurotrophin-Milieu ausüben könnten.

Die Zytokin-induzierte Hochregulation der Neurotrophine in der Epidermis und in der Haarmatrix könnte die Funktion und das Überleben von Melanozyten beeinflussen (122-124) und könnte – zumindest zum Teil – das klinisch regelmäßig beobachtete, aber bisher nicht verstandene Phänomen der postinflammatorischen Hyperpigmentierung erklären (124, 125). Zytokin-vermittelte Hochregulation von Neurotrophinen und ihren Rezeptoren könnte auch eine wichtige Rolle in der Pathogenese entzündlicher Hauterkrankungen spielen, wie es für Psoriasis, Atopische Dermatitis und Prurigo nodularis bereits vorgeschlagen wurde (84, 126-128). Die Zytokin/Neurotrophin-Achse erscheint also als attraktives neues pharmakologisches Ziel der dermatologischen Forschung.

Aufgrund der Beeinflussung der kutanen Expression von Neurotrophinen und p75NTR durch Zytokine untersuchten wir die Hypothese, dass die Effekte von Zytokinen auf axonales Auswachsen primär über eine Modulation Neurotrophin-abhängiger Regeneration vermittelt werden. Wir konnten nachweisen, dass die Zytokine TNF α , IFN γ , IL-4 und IL-6 tatsächlich primär Neurotrophin-abhängiges Auswachsen von Spinalganglienzellen beeinflussen ([Beitrag 2.5](#)). Dies ist die erste systematische Untersuchung der Zytokin/Neurotrophin-Achse in der axonalen Regeneration des PNS.

TNF α wird bereits im intakten PNS von Mäusen synthetisiert, doch Synthese und Sekretion werden während der Wallerschen Degeneration in Schwanzzellen hochreguliert (129). In unserem Modell organotypischer Spinalganglien inhibierte eine hohe Dosis TNF α Neurotrophin-abhängiges Neuriten-Auswachsen ([Beitrag 2.5](#)). Diese Ergebnisse sind konsistent mit den TNF α -Effekten in Spinalganglien-Explantaten neugeborener Ratten (130). Diese TNF α -Effekte könnten sich erklären durch Veränderung des Zellüberlebens, d. h. reduziertes Zellüberleben führt zu reduziertem Axonwachstum (22). Unsere Daten deuten aber darauf hin, dass TNF α -Effekte primär über eine Beeinflussung einiger spezifischer (aber nicht aller) Neurotrophin-Kombinationen funktionierten, sodass verändertes Zellüberleben als Ursache nicht ausgeschlossen werden kann, aber unwahrscheinlicher erscheint als eine Modulation Neurotrophin-abhängigen Auswachsens ([Beitrag 2.5](#)).

IFN γ wurde in Spinalganglien-Neuronen der Ratte (postnataler Tag 9, P9) nachgewiesen, aber nicht in Schwanzzellen (131). Periphere Nervenläsion induziert eine IFN γ -Hochregulation im Endoneurium (132). IFN γ inhibiert Neuritenwachstum von Spinalganglienzellen am postnatalen Tag 1, die auf immortalisierten Schwanzzellen kultiviert werden (133). Im Gegensatz dazu führt IFN γ in organotypischen Spinalganglien zu einer Steigerung Neurotrophin-induzierter Neuriten-Extension ([Beitrag 2.5](#)). Diese beiden Modelle (postnatale Einzelzellen versus embryonale Ganglien im Gewebeverband) sind jedoch schwer vergleichbar, da sich sowohl die Gewebe-Isolation, das Entwicklungsstadium als auch die Kulturbedingungen sehr unterscheiden. Doch unsere Daten unterstützen das Konzept einer Zytokin/ Neurotrophin-Achse, da IFN γ nur auf Neurotrophin-abhängiges Axonwachstum eine stimulierende Auswirkung hat.

In der Folge peripherer Nervenläsion wird die IL-6-Expression in Spinalganglien-Neuronen (134, 135) und Schwanzzellen (136, 135) hochreguliert. IL-6-Rezeptor-mRNA wurde nachgewiesen in den Zellkörpern von Spinalganglien-Neuronen und Schwanzzellen

(79). Diese Expressionsmuster von IL-6 und seinem Rezeptor deuten auf eine wichtige Rolle in der Frühphase der Nervenreparatur hin. Die Gabe von Anti-IL-6-Antikörper führt zu einer verzögerten Regeneration des N. hypoglossus nach Axotomie *in vivo* (136). Im Gegensatz zu Wildtypmäusen führt eine

präkonditionierende Schädigung des N. ischadicus in IL-6-defizienten Mäusen nicht zu einer gesteigerten Regeneration von Hinterhorn-Axononen. Ferner zeigen kultivierte Spinalganglienzellen präkonditionierter Wildtyp-Mäuse ein deutlich reduziertes Axonwachstum in der Abwesenheit von IL-6 (76). Schließlich konnte nachgewiesen werden, dass IL-6 nur dann einen Einfluss auf dissoziierte sensible Neurone adulter Ratten hatte, wenn es zusammen mit NGF oder NT-3 gegeben wurde (76). In unserem Modell organotypischer Spinalganglien führte nicht nur eine Gabe von 50ng/ml IL-6 sondern auch eine noch weitaus geringere Dosis IL-6 (10ng/ml) zu einer Stimulation des NT-3+NT-4-abhängigen Neuritenwachstums ([Beitrag 2.5](#)). Dies deutet darauf hin, dass sogar sehr kleine Steigerungen des IL-6-Levels axonales Auswachsen fördern könnten ([Beitrag 2.5](#)).

Als interessantestes Ergebnis erschien uns der dosisabhängige Einfluss von IL-4 auf axonales Auswachsen. Da T-Zellen Neurotrophine sezernieren können, wurde die Hypothese geäußert, dass lokal einwandernde T-Zellen im Rahmen einer Entzündungsreaktion neuroprotektive und pro-regenerative Effekte durch lokale Neurotrophinsekretion im geschädigten Gewebe zeigen können (62, 137). Unsere Daten deuten nun darauf hin, dass T-Zellen darüber hinaus regenerative Effekte durch die lokale IL-4-Sekretion und nachfolgende Beeinflussung der Neurotrophin-Signaltransduktion induzieren können ([Beitrag 2.5](#)).

3.2. Die Zytokin/Neurotrophin-Achse in der axonalen Regeneration des zentralen Nervensystems

Da wir in der Neurotrophin-abhängigen axonalen Regeneration des peripheren Nervensystems einen pro-regenerativen Effekt von IL-4 nachweisen konnten ([Beitrag 2.5](#)) und im ZNS IL-4 als den entscheidenden Mediator Th2-induzierter Steigerung Neurotrophin-abhängigen Axonwachstums charakterisiert haben ([Beitrag 2.6](#)), erscheint uns dieses Zytokin von zentraler Bedeutung für neuroregenerative Therapien, doch entscheidende funktionelle Fragen müssen noch geklärt werden.

Wir konnten zeigen, dass aktivierte Th2-Zellen unabhängig vom Antigen und unabhängig vom Maushintergrund die axonale Regeneration fördern. Dies steht im Widerspruch zu Publikationen der Schwartz-Gruppe, die betonen, dass protektive T-Zelleffekte nach mechanischer Läsion ausschließlich mit ZNS-spezifischen, autoreaktiven T-Zellen erzielt werden, jedoch nicht mit T-Zellen, die für ein Fremdartigen spezifisch sind (50). In unseren Modellen zeigten sowohl ovalbumin-

spezifische als auch unspezifisch mit Conalbumin-A-aktivierte T-Zellen protektive und pro-regenerative Effekte ([Beitrag 2.6](#)). Die Arbeiten der Schwartz-Gruppe wurden intensiv kritisiert insbesondere im Hinblick darauf, dass der Mechanismus der protektiven T-Zell-Effekte bisher unzureichend erklärbar ist (49, 52). Mit den vorliegenden Daten konnten wir erstmals IL-4 als einen zentralen Mediator pro-regenerativer T-Zell-Effekte charakterisieren. Daraus folgt fast zwingend, dass systematisch autoreaktive, spezifisch mit Fremddantigen (z. B. Ovalbumin) aktivierte und unspezifisch aktivierte Th1- und Th2-Zellen im Hinblick auf ihr neuroprotektives und pro-regeneratives Potential verglichen werden sollten.

Ferner bleibt es eine offene Frage, ob die förderlichen IL-4-Effekte direkt über IL-4-Rezeptoren auf neuronalen Zellen vermittelt werden oder ob auch IL-4-Rezeptor-positive Mikrogliazellen oder Astrozyten beteiligt sind. Es ist seit langem bekannt, dass IL-4 das neuronale Überleben von hippocampalen Neuronenkulturen fördert (138). Es ist jedoch auch hier unklar, ob der Effekt direkt oder indirekt über Gliazellen vermittelt wird. Es gibt ferner einige intensiv diskutierte Hinweise, dass durch IL-4 aktivierte Mikroglia spezifische Stammzell/Vorläuferzellpopulationen pro-regenerativ zu beeinflussen vermag (139, 140). Letztendliche Klarheit wird erst ein glia- und neuronenspezifischer Knockout des IL-4-Rezeptors bringen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir in der vorliegenden Arbeit erstmalig einen präzisen Wirkmechanismus protektiver T-Zell-Effekte nachweisen konnten ([Beitrag 2.6](#)). Die hier zusammengefassten Daten bilden eine vielversprechende Grundlage, um die pro-regenerative Rolle von Th2-Zellen und IL-4 im Rahmen neuroregenerativer Therapien weiter zu untersuchen.

3.3. Therapeutische Perspektiven

Die vorgestellten Arbeiten sind ein klarer Hinweis darauf, dass die Zytokin/Neurotrophin-Achse sowohl in der dermatologischen als auch 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.

Um gezielt nach potenten Pharmaka zu suchen, die eine kontrollierte Reinnervation denervierter Haut unterstützen, sollten die folgenden Schlussfolgerungen berücksichtigt werden:

1. Es gibt bereits in gesunder, unbehandelter Haut eine beachtliche physiologische neuronale Plastizität (insbesondere während des Haarzyklus).
2. Diese physiologische neuronale Plastizität wird durch Entzündungsprozesse beeinflusst.
3. Entzündungs-assoziierte Beeinflussung der axonalen Regeneration nach peripherer Nervenschädigung wird über eine Zytokin/Neurotrophin-Achse vermittelt.

Im Kontext kutaner Neuroregeneration ist es entscheidend, dass die dichteste Innervation in der Haut um die Haarfollikel konzentriert ist ([Beitrag 2.2.B](#)) und dass Haarfollikelmorphogenese und adulter Umbau mit neuronaler Plastizität verbunden sind (141-143; [Beitrag 2.2.B](#)). Therapeutische Veränderungen des Haarzyklus könnten also neuroregenerative Therapien unterstützen. Andererseits muss beachtet werden, dass mit dem Haarwachstum assoziierte Steigerungen der Nervendichte nicht fälschlicherweise als therapeutischer Erfolg im Sinne einer Neuroregeneration fehlinterpretiert werden, da die Dichte in der nächsten Regressionsphase wieder abnimmt. Darüber hinaus muss bei der Analyse beachtet werden, dass im Rahmen experimenteller Untersuchungen Test- und Kontrollgruppe der gleichen Menge und der gleichen Art von Stress (akut, chronisch) ausgesetzt werden, da Stress-induzierte Veränderungen als therapeutischer Effekt fehlgedeutet werden können. Daraus folgt, dass standardisierte Analysemethoden zur Beurteilung der kutanen Innervation verwendet werden müssen, wie sie von uns in den letzten Jahren vorgestellt wurden ([Beitrag 2.2.B](#); 112, 144), um Artefakte zu vermeiden. Nur solch ein standardisiertes Modell erlaubt es, Unterschiede der axonalen Regeneration nach mechanischer oder biochemischer Schädigung in genetisch veränderten oder pharmakologisch beeinflussten Tieren zu analysieren, um systematisch Pharmaka zu suchen und zu entwickeln, die die Neuroregeneration in der Haut stimulieren.

Um Entzündungsprozesse im Rahmen der Neuroregeneration zu verstehen und pharmakologisch zu beeinflussen, sollten die folgenden experimentellen Fragen untersucht werden:

-
- Welchen Einfluss haben verschiedene Arten von Entzündung (akut vs. chronisch, Th1- vs. Th2-dominierte Entzündung, Wundheilung vs. Autoimmunität etc.) auf die Degeneration und Regeneration kutaner Nerven?
 - Wird Hautentzündung gehemmt oder exazerbiert durch reaktives Axonwachstum und Reinnervation?
 - Sollten neuroregenerative Therapien bestimmte Typen von Immunzellen und/oder Zytokinen fördern oder inhibieren?
 - Welche Rolle spielt die Zytokin/Neurotrophin-Achse in kutaner Neuroregeneration?

Diese experimentellen Fragen sind insbesondere in der Behandlung dysregulierter neuronaler Plastizität von Bedeutung wie z. B. bei posttraumatischer Hypo- und Hyperinnervation sowie bei chronischen Schmerzsyndromen. Kontrollierte Reinnervation könnte auch eine wichtige Rolle in der Wundheilung spielen, da verminderte Innervation die Wundheilung negativ beeinflussen kann (145-148). Ferner könnte nach entzündlicher oder toxischer Nervenschädigung (z. B. Autoimmunneuritis oder diabetische Neuropathie) eine kontrollierte Reinnervation denervierter Hautareale helfen, Selbstschädigung aufgrund verminderter Schmerzwahrnehmung zu vermeiden.

Im ZNS scheint insbesondere IL-4 ein hochinteressanter Kandidat zur positiven Beeinflussung der Neuroregeneration zu sein. Eine systematische Untersuchung der Effekte einer veränderten systemischen Th1/Th2-Balance (z. B. durch kontinuierliche IL-4-Gabe) auf Neuroprotektion und Axonregeneration steht noch aus. In diesem Zusammenhang ist es von großer Bedeutung, dass bei Vakzinierungsstrategien das verwendete Adjuvans gut im Hinblick auf seine Th1- oder Th2-induzierenden Eigenschaften charakterisiert ist und dementsprechend ausgewählt wird, da Th1-Adjuvantien (z. B. Komplettes Freundsches Adjuvans) autoimmune Hirnentzündung und Th2-Adjuvantien (z. B. Aluminiumhydroxid) allergische Reaktionen hervorrufen oder verschlimmern könnten. Es muss insbesondere in Betracht gezogen werden, dass das Immunsystem der Maus Schwankungen des Immunstatus anders verarbeitet und auch anders auf Adjuvantien im Rahmen von Vakzinierungsstrategien reagiert als das humane Immunsystem (149). Es ist ferner notwendig zu untersuchen, ob ein lokaler oder systemischer Th2-Shift die mit ZNS-

Trauma assoziierte Immunsuppression (55) noch verstärkt und somit das Risiko einer Infektion weiter steigt. Abgesehen davon erscheint es aber sehr vielversprechend zu untersuchen, ob die Induktion eines systemischen Th2-Shifts die autoimmunen Nebenwirkungen von therapeutischen Vakzinierungen gezielt unterdrücken kann. Ferner scheint es vielversprechend die potentiellen therapeutischen Effekte eines lokalen oder systemischen Th2-Shifts im Rahmen anderer axonaler Läsionsmodelle zu untersuchen – z. B. in Läsionsmodellen des N. opticus, N. ischiadicus oder N. facialis.

Abschließend lässt sich sagen, dass es mit den hier zusammengefassten Daten erste gute Hinweise gibt, dass die Zytokin/Neurotrophin-Achse ein interessantes pharmakologisches Ziel zur Stimulation der axonalen Regeneration ist und dass in den verschiedensten Krankheitskontexten die pharmakologische Förderung kontrollierter Reinnervation die Kosten nachfolgender Behandlungen senken und die Lebensqualität der Patienten verbessern kann.