

5 Diskussion

TSE sind chronische neurodegenerative Erkrankungen, für die es bislang keine wirksame Therapie gibt.

Das CD40-CD40L-System spielt neben seiner Bedeutung für die T-Zell-vermittelte humorale Immunität auch eine wichtige Rolle als Modulator verschiedener chronisch-entzündlicher Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose oder der Alzheimer Krankheit, weshalb für diese Erkrankungen die Blockierung der CD40L-Signalübertragung als therapeutischer Ansatz vorgeschlagen worden ist (Gerritse et al., 1996; Tan et al., 2002b). Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkungen der CD40L-Defizienz auf den zentralnervösen Verlauf der Scrapie-Infektion in Mäusen, die ein gut etabliertes TSE-Modell darstellt, zu untersuchen und das CD40-CD40L-System als möglichen therapeutischen Angriffspunkt zu überprüfen.

Da die Pathogenese von TSE und AD eine Reihe von Parallelen aufweist (siehe Punkt 2.4), wurden die Ergebnisse dieser Arbeit, wenn möglich mit denen von CD40L^{-/-}-Mäusen in einem AD-Modell verglichen.

5.1 Überlebenszeiten

Die Überlebenszeiten der CD40L^{-/-}-Mäuse waren signifikant kürzer als die der Wildtyp-Kontrollmäuse: CD40L^{-/-}-Mäuse starben im Durchschnitt 40 Tage früher. Die Überlebenszeiten der für diese Studie verwendeten Wildtyp-Kontrollmäuse mit gemischtem genetischen Hintergrund (129 Sv x C57/B6) entsprechen bei gleicher Infektionsdosis denen reiner C57/B6-Mäuse (siehe Tabelle 4). Der genetische Hintergrund der für diese Studie benutzten Mäuse hat als solcher also offensichtlich keinen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeiten. Um die Größenordnung des Unterschieds zwischen CD40L^{-/-}-Mäusen und Wildtyp-Kontrollen einzuordnen, kann man auf eine Studie von Klein und Kollegen zurückgreifen, in der C57/B6-Mäuse mit unterschiedlichen Dosen des mit dem Scrapie-Stamm 139A verwandten Chandler-Scrapie-Stammes infiziert wurden (Klein et al., 2001). Für die Infektionsdosis, die der in der vorliegenden Arbeit verwendeten entsprach, ergaben sich nahezu identische Überlebenszeiten. Gemäß der Studie von Klein und Kollegen würde der Unterschied von 40 Tagen in der Überlebenszeit einer etwa 1000-fach höheren Infektionsdosis für die CD40L^{-/-}-Mäuse entsprechen.

Dieser große Unterschied resultiert aus Veränderungen charakteristischer Parameter der Scrapie-Infektion, die durch das Fehlen von CD40L ausgelöst werden.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchung dieser Parameter zunächst im Einzelnen diskutiert, bevor versucht wird, ihr Zusammenwirken im Bezug auf die

Überlebenszeiten zu erklären.

5.2 PrP^{Sc}-Ablagerung

Das zentrale Ereignis in der Pathogenese von TSE ist die Ablagerung von unlöslichem, fehlgefalteten PrP^{Sc}, denn hierdurch werden neuroinflammatorische Prozesse ausgelöst, die zur fortschreitenden Degeneration von Hirngewebe führen (Rezaie & Lantos, 2001).

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob sich die CD40L-Defizienz auf die PrP^{Sc}-Ablagerung auswirkt. Untersucht wurde diese Ablagerung im asymptomatischen und im terminalen Krankheitsstadium mit Hilfe von Western Blot, Immunhistochemie und PET Blot. Die Durchführung des Western Blots ergab, dass bei geringfügigen Unterschieden zwischen den einzelnen Proben insgesamt keine Unterschiede zwischen CD40L^{-/-}-Mäusen und Wildtyp-Kontrollen hinsichtlich der Gesamtmenge an PrP^{Sc} bestehen (siehe Punkt 4.1.1). Auch die Lokalisation der PrP^{Sc}-Ablagerung stimmte in CD40L^{-/-}-Mäusen und Kontrollmäusen überein, wie die Untersuchung mittels Immunhistochemie und PET Blot ergab (siehe Punkt 4.1.2 und Punkt 4.1.3). Eine besonders starke PrP^{Sc}-Ablagerung fand sich in beiden Gruppen in Thalamus, Hippocampus und Cortex (siehe Punkt 4.1.3). PrP^{Sc} wird im ZNS hauptsächlich von Neuronen, aber auch von Astrozyten gebildet (Raeber et al., 1997). Daraus kann man schließen, dass das Fehlen von CD40L im Scrapie-Modell die PrP^{Sc}-Entstehung in diesen Hirnarealen nicht beeinflusst. Ein anderer Mechanismus zur Reduktion von PrP^{Sc}-Ablagerungen, die Phagozytose von PrP^{Sc} durch Mikroglia (Peyrin et al., 1999), wird durch das Fehlen von CD40L offensichtlich nicht gefördert.

Im AD-Modell führte die CD40L-Defizienz im Gegensatz dazu zu einer deutlich verringerten A β -Ablagerung (Tan et al., 2002b). Das amyloidogene A β , das ähnlich wie PrP^{Sc} in TSE für das Entstehen neuroinflammatorischer Prozesse verantwortlich ist (Eikelenboom et al., 2002), entsteht durch Fehlsplaltung aus dem Vorläuferprotein APP. Tan und Kollegen zeigen, dass CD40L im Mausmodell die Sekretaseaktivität der für die Fehlsplaltung verantwortlichen Enzyme β - und γ -Sekretase beeinflusst und dadurch die Amyloidentstehung fördert. Ein weiterer Mechanismus, durch den das CD40-CD40L-System die Amyloidablagerung im Gehirn beeinflussen könnte, ist die Klärfähigkeit des bereits entstandenen A β aus dem Gehirn ins Blut. Durch die Gabe eines CD40L-Antikörpers konnte der Plasmaspiegel von A β in Alzheimer-Mäusen gesteigert werden (Tan et al., 2002b). Im AD-Modell führen also Mechanismen zur Reduzierung von Amyloid, die im Scrapie-Modell nicht existieren.

5.3 Mikrogliose

Die Aktivierung von Mikroglia ist ein frühes, parallel zur Ablagerung von PrP^{Sc} verlaufendes Ereignis in der zentralnervösen Scrapie-Pathogenese und kann bereits vor dem Auftreten neurodegenerativer Prozesse und klinischer Symptome festgestellt werden (Brown, 1996; Giese 1998). Als Rezeptor für die Mikroglia-Aktivierung durch PrP^{Sc} ist bislang nur FPRL1 beschrieben worden (Le, 2001b). Auch A β aktiviert Mikroglia über diesen Rezeptor (Le, 2001a). Combs und Kollegen beschreiben zudem identische Signalübertragungswege bei der Aktivierung von Mikroglia durch PrP¹⁰⁶⁻¹²⁶ und A β (Combs et al., 1999). Diese Befunde deuten auf Parallelen zwischen TSE und AD hinsichtlich der Mikrogliaaktivierung hin (siehe Punkt 2.4).

In vitro-Studien haben gezeigt, dass CD40L in Synergie mit A β die Aktivierung von Mikroglia stimuliert (Tan et al., 1999) und im AD-Modell zeigen CD40L-defiziente Alzheimer-Mäuse eine verminderte Mikrogliose (Tan et al., 2002b). In der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob dieser Kostimulationsmechanismus auch in scrapie-infizierten CD40L^{-/-}-Mäusen wirksam ist und ob dementsprechend auch in scrapie-infizierten CD40L^{-/-}-Mäusen das Ausmaß der Mikrogliaaktivierung verringert ist.

Die Mikrogliose wurde immunhistochemisch durch den Nachweis F4/80 positiver Mikroglia untersucht. In den CD40L^{-/-}-Mäusen war sie in allen untersuchten Hirnregionen deutlich stärker ausgeprägt. Auch hier konnte also kein dem AD-Modell entsprechendes Ergebnis festgestellt werden. Die PrP^{Sc}-Ablagerung war in den CD40L^{-/-}-Mäusen unverändert. Das bedeutet, dass von dieser Seite ein unverändertes (direktes) Signal für die Aktivierung von Mikroglia ausgeht (Brown et al., 1996; Giese 1998). Für die in vitro-Aktivierung von Mikroglia ist ein kostimulierender Effekt von CD40L und A β beschrieben worden (Tan et al., 1999). Die verstärkte Mikroglia-Aktivierung im Scrapie-Modell spricht gegen das Vorhandensein eines analogen Effekts von CD40L und PrP^{Sc}.

Für die Tatsache, dass das Ausmaß der Mikrogliaaktivierung in den CD40L^{-/-}-Mäusen den Wildtyp-Level sogar bei weitem übersteigt (siehe Punkt 4.1), könnte die verstärkte Neurodegeneration in den CD40L^{-/-}-Mäusen verantwortlich sein (siehe Punkt 4.5 bzw. 4.6). Durch verstärkte Aktivierungssignale von sterbenden Neuronen (Brown et al., 1998) und einen höheren Bedarf an der Beseitigung und/oder dem Umbau degenerierten Hirngewebes könnte eine stärkere Mikroglia-Aktivierung in den CD40L^{-/-}-Mäusen hervorgerufen werden.

Gestützt wird letzteres durch die Ergebnisse, die die Bestimmung der Genexpressionslevel von Lysozym M ergaben (siehe Punkt 4.6). Lysozym M ist ein wichtiges bakterioly-

tisches Enzym in aktivierten Makrophagen (Venezie et al., 1996). Immunhistochemisch konnte in Gehirnen scrapie-infizierter Mäuse eine Kolokalisation von Lysozym M mit F4/80 immunreaktiven Mikroglia nachgewiesen werden (Kopacek et al., 2000), was zeigt, dass Lysozym M von phagozytoseaktiven Mikroglia exprimiert wird.

Die Bestimmung der Lysozym M-Level zeigte in den CD40L^{-/-}-Mäusen eine 10- bis 11-fache Erhöhung im Vergleich zu den Kontrollmäusen zum asymptomatischen Zeitpunkt. Zum terminalen Zeitpunkt lagen die Lysozym M-Level nur noch um das 1,8- bzw. 1,9-fache über denen der Kontrollen. Das deutet darauf hin, dass vor allem zum frühen Zeitpunkt in den CD40L^{-/-}-Mäusen verstärkt phagozytotische Prozesse ablaufen und deckt sich so mit den Ergebnissen aus der Immunhistochemie.

5.4 Astrozytose

Auch Astrozyten werden als Folge der PrP^{Sc}-Ablagerung aktiviert. Diese Aktivierung erfolgt durch proinflammatorische Zytokine und andere lösliche Faktoren, die von aktivierten Mikroglia sezerniert werden (Schultz et al., 2004; Hafiz, 2000), aber auch durch eine direkte Interaktion mit PrP^{Sc} über Scavenger-Rezeptoren (Wyss-Coray, 2003).

Aktivierte Astrozyten tragen ihrerseits zur Verstärkung der Neuroinflammation bei, indem sie Chemokine wie MCP-1, CXCL9, CXCL10 sezernieren und dadurch die Einwanderung weiterer Mikroglia in bereits geschädigte Regionen bewirken (Marella & Chabry, 2004). Zusätzlich büßen proliferierende Astrozyten an Effizienz in der Regulierung extrazellulärer Glutaminspiegel ein, was dazu führt, dass Neuronen durch übermäßig in den Synapsen vorhandenes Glutamat exzitotoxisch geschädigt werden können (Brown, 1999).

In der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob das Fehlen von CD40L Auswirkungen auf das Ausmaß der Astrozytenaktivierung hat. Untersucht wurde die Astrozytose durch immunhistochemischen Nachweis von GFAP (siehe Punkt 4.4) im asymptomatischen Krankheitsstadium sowie durch die Bestimmung der Genexpressionslevel für GFAP im asymptomatischen und terminalen Zeitpunkt. Übereinstimmend ergaben diese Methoden, dass in den CD40L^{-/-}-Mäusen kein Unterschied in der GFAP-Expression zu den Wildtyp-Kontrollen besteht.

Der Vergleich mit dem Alzheimer-Modell zeigt also erneut ein abweichendes Ergebnis: CD40L-defiziente Alzheimer-Mäuse weisen eine deutlich geringere Astrozytose als vergleichbare Wildtyp-Mäuse auf. Dieser Unterschied könnte sich dadurch erklären, dass in scrapie-infizierten CD40L^{-/-}-Mäusen die PrP^{Sc}-Ablagerung, mit deren Ausmaß die Astrozytenaktivierung korreliert ist (Fraser, 2003), unverändert ist.

5.5 Vakuolisierung des Hirngewebes

Die Vakuolisierung des Hirngewebes gehört zu den neuropathologischen Charakteristika von TSE. Die spongiformen Veränderungen entsprechen sowohl Vakuolen im Neuropil, die durch neuronalen Zelluntergang entstehen als auch einer reversiblen intraneuronalen Vakuolenbildung in Nervenzellen, deren Degeneration bevorsteht (Liberski, 1992; Mallucci, 2003).

Der Vergleich der Vakuolisierung zwischen den CD40L^{-/-}-Mäusen und den Wildtypkontrollen zum asymptomatischen Zeitpunkt erbrachte eine deutlich stärkere Vakuolisierung in den CD40L^{-/-}-Mäusen. Diese zeigten einerseits eine erhöhte Quantität an Vakuolen, andererseits waren die Vakuolen in größerer Zahl zu Mikrozysten konfluiert. Das bedeutet, dass in den CD40L^{-/-}-Mäusen zum asymptomatischen Stadium schon in stärkerem Ausmaß neurodegenerative Prozesse stattgefunden haben und dass eine größere Anzahl an Neuronen durch neurodegenerative Prozesse bedroht ist.

5.6 Neuronaler Zelltod

Für den neuronalen Zelltod in TSE ist wahrscheinlich ein Zusammenspiel verschiedener schädigender Faktoren verantwortlich. Zytokine und neurotoxische Faktoren, die von aktivierten Mikroglia sezerniert werden (Rezaie und Lantos, 2001) schädigen Nervenzellen ebenso wie exzitotoxisches Glutamat (Brown, 1999). Zudem hat auch PrP^{Sc} selbst eine neurotoxische Wirkung (Forloni et al., 1993, Chiesa and Harris, 2001).

Um die Auswirkungen der CD40L-Defizienz auf den Umfang apoptotischer Prozesse im Gehirn zu bestimmen, wurden die Genexpressionslevel für das Enzym OAS in CD40L^{-/-}-Mäusen und Wildtyp-Kontrollen verglichen. OAS ist über die Aktivierung von RNase L an apoptotischen Prozessen beteiligt (Castelli, 1999; Zhou, 1999). Dieses Enzym wird durch Viren, Interferone und durch doppelsträngige RNA induziert (Sarkar & Sen, 2004) und ist offensichtlich auch in TSE an apoptotischen Prozessen beteiligt. Darauf deutet eine um das 2- bis 5-fache gegenüber dem nichtinfizierten Gehirn hochregulierte OAS-Expression im Gehirn scrapie-infizierter Mäuse hin (Riemer, 2000).

In den CD40L^{-/-}-Mäusen fanden sich zum asymptomatischen Zeitpunkt 4- bis 6-fach erhöhte OAS-Level im Vergleich zu den Wildtyp-Kontrollen während zum terminalen Zeitpunkt kein Unterschied mehr feststellbar war. Das deutet darauf hin, dass in den CD40L^{-/-}-Mäusen schon sehr früh in verstärktem Maße apoptotische Prozesse stattfinden.

Der neuronale Zelltod wurde außerdem exemplarisch durch den Nachweis parvalbumin-positiver Neuronen untersucht, die eine Unterpopulation GABAerger inhibitorischer

Neuronen darstellen. Ein selektiver Verlust dieser Neuronen ist schon zu einem frühen Zeitpunkt der Scrapie-Infektion zu beobachten (Guentchev et al.; 1998).

In der vorliegenden Arbeit wurde im asymptomatischen Stadium die Zelldichte parvalbumin-positiver Neuronen in mock-infizierten Mäusen, die als Normalmaßstab genommen wurden, scrapie-infizierten Wildtyp-Mäusen und CD40L^{-/-}-Mäusen verglichen. Während scrapie-infizierte Wildtyp-Kontrollmäuse im Vergleich zu mock-infizierten Mäusen, eine geringgradige Abnahme parvalbumin-positiver Neuronen aufwiesen, war in den CD40L^{-/-}-Mäusen die Zahl parvalbumin-positiver Neuronen hingegen stark reduziert. Da die CD40L^{-/-}-Mäuse ebenso wie die Wildtyp-Kontrollmäuse zum Zeitpunkt 125 dpi klinisch asymptomatisch waren, muss man davon ausgehen, dass der Neuronenverlust zu diesem Zeitpunkt funktionell noch kompensierbar war.

Das Fehlen von CD40L führt in der Scrapie-Infektion also zu einer starken Zunahme frühzeitiger apoptotischer Prozesse und zu deutlich früherem Neuronensterben, wie am Beispiel parvalbumin-positiver Neuronen demonstriert wurde.

5.7 Schlussfolgerungen / mögliche Erklärungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass eine CD40L-Defizienz hochgradig schädlich für den Verlauf der Scrapie-Infektion in der Maus ist. CD40L^{-/-}-Mäuse zeigten im Vergleich zu Wildtyp-Kontrollmäusen eine deutlich verstärkte Mikrogliose und Vakuolisierung des Hirngewebes und Neurodegeneration, und sie sterben durchschnittlich 40 Tage früher.

Die Auswirkungen der CD40L-Defizienz im Scrapie-Modell unterscheiden sich also grundsätzlich von den positiven Effekten, die diese Defizienz im Alzheimer-Modell auf die Amyloidentstehung und Gliaaktivierung hatte. Das könnte sich dadurch erklären, dass die Unterbrechung der CD40L-Signalkaskade in Prionerkrankungen im Gegensatz zur AD keine prophylaktischen Effekte hinsichtlich der Entstehung von Amyloidablagerungen hat. Im Alzheimer-Modell ist in den CD40L^{-/-}-Mäusen die Entstehung von A β gedrosselt und damit der Auslöser für die Gliose und die resultierende Neurodegeneration verringert (Tan et al., 2002b). Außerdem findet der in vitro beschriebene Mechanismus der Kostimulation durch A β und CD40L bei der Mikrogliaaktivierung (Tan et al., 1999) in TSE offensichtlich keine Entsprechung oder spielt eine unbedeutende Rolle. Ein Hinweis auf letzteres könnte die Tatsache sein, dass die Expression von CD40 in Mikroglia aus CJD-kranken Gehirnen nicht nennenswert erhöht ist (Baker, 2002). Denkbar ist allerdings auch, dass dieser Kostimulationsmechanismus weder in TSE noch in der AD eine bedeutende Rolle bei der Mikrogliaaktivierung spielt, denn die

im AD-Modell beobachtete verringerte Mikrogliose könnte durchaus auch allein aus der verringerten A β -Belastung resultieren (Tan et al., 2002b).

Das zentrale Ereignis in der Scrapie-Pathogenese, die Entstehung und Ablagerung von PrP^{Sc} ist in den CD40L^{-/-}-Mäusen nicht beeinflusst. Dennoch sind Mikrogliose und Neurodegeneration in diesen Mäusen wesentlich stärker ausgeprägt. Die Mikrogliaaktivierung durch Interaktion mit PrP^{Sc} ist im normalen Verlauf von TSE ein frühes Ereignis, das schon vor dem Auftreten von Neurodegeneration beobachtet werden kann. Da in den CD40L^{-/-}-Mäusen jedoch schon zum frühen Zeitpunkt ausgeprägte neurodegenerative und apoptotische Prozesse feststellbar sind, ist die verstärkte Mikrogliose in diesen Mäusen wahrscheinlich eine Folge dieses verstärkten Neuronensterbens.

Eine mögliche Antwort auf die Frage, was die Neuronen in den scrapie-infizierten CD40L^{-/-}-Mäusen so viel früher sterben lässt, findet sich, wenn man die physiologischen Funktionen des CD40-CD40L-Systems im ZNS betrachtet. CD40 wird konstitutiv auf Neuronen exprimiert, und in vitro werden CD40 exprimierende Neuronen durch die Ligation mit CD40L gegen Stress geschützt, der durch Serumentzug oder den Entzug von nerve growth factor- β (NGF- β) verursacht wird (Tan et al., 2002a). Dieser Schutz geht auf eine Hemmung der c-Jun N-terminalen Janus-Kinase (JNK) in den Neuronen zurück. Der JNK-Signalübertragungsweg bewirkt die Cytochrom C-Freisetzung aus Mitochondrien und dadurch die Aktivierung der zur Apoptose führenden Effektor-Caspasen. Weiterhin stimuliert CD40L den neuroprotektiven p44/42 mitogen activated protein kinase (MAPK)-Signalübertragungsweg (Tan et al., 2002a). Die Bedeutung der neuronalen CD40-Expression wird durch die Tatsache unterstrichen, dass CD40-defiziente Mäuse ab dem Alter von 16 Monaten eine ausgeprägte Neurodegeneration entwickeln, also eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Alterungsprozessen zeigen (Tan et al., 2000a). Auch der Befund, dass CD40 in den Neocortices 30 Monate alter Mäuse um den Faktor 2 hochreguliert ist (Lee et al., 2000), könnte auf eine mögliche neuroprotektive Bedeutung des CD40-CD40L-Systems in Alterungsprozessen hindeuten.

Neben diesen direkten neuroprotektiven Funktionen könnten CD40-CD40L-Interaktionen auch indirekt zum Schutz von Neuronen beitragen. In vitro konnte gezeigt werden, dass in Monozyten, darunter auch Mikroglia, durch Ligation mit CD40L eine Freisetzung von brain derived neurotrophic factor (BDNF) induziert werden kann (Shibata et al., 2003; Jonakait et al., 2002). Neurotrophe Faktoren wie BDNF haben unter experimentellen Bedingungen, die denen neurodegenerativer Erkrankungen ähneln, ihre Fähigkeit bewiesen, das Überleben von Neuronen zu fördern (Mattson, 1997; Cavanaugh et al., 2001; Kelly-Spratt et al., 2002). Aus der Kenntnis dieser physiologische Funktio-

nen des CD40-CD40L-Systems im ZNS, ergibt sich die Frage, ob eine Defizienz für CD40L im ZNS nicht ebenso wie eine CD40-Defizienz per se schädlich sein könnte und ob dementsprechend die Unterschiede zwischen den CD40L^{-/-}-Mäusen und den Wildtypkontrollen im Scrapie-Modell nicht dem CD40L^{-/-}-Phänotyp als solchem geschuldet sein könnten.

Dagegen spricht zum einem, dass die für diese Arbeit verwendeten CD40L^{-/-}-Mäuse vor dem klinischen Beginn der Erkrankung keinen auffälligen Phänotyp zeigten und dass sich die Scrapie-Symptome selbst bei diesen Mäusen nicht von denen unterschieden, die bei den Wildtyp-Mäusen im gleichen Stadium beobachtet wurden. Auch wurde für CD40L^{-/-}-Mäuse kein Phänotyp hinsichtlich eines früheren Sterbens oder des Auftretens von neurodegenerativen Prozessen beschrieben (Renshaw et al.; 1994). Ebenso wenig wiesen Gehirn und sonstige Organe der in der vorliegenden Arbeit verwendeten CD40L^{-/-}-Mäuse bei der Obduktion makroskopische Abweichungen gegenüber den Wildtyp-Mäusen auf, so dass andere, außerhalb des ZNS liegende Faktoren als Ursache des früheren Sterbens der CD40L^{-/-}-Mäuse weitestgehend ausgeschlossen werden können. Zum anderen liefern auch die Ergebnisse anderer Krankheitsmodelle wie AD (Tan et al.; 2002b), EAE oder MS (Gerritse et al., 1996), in denen die CD40L Signalübertragung blockiert wurde, keine Hinweise auf eine mögliche Schädlichkeit der CD40L-Defizienz im ZNS.

Es besteht also offensichtlich ein Unterschied zwischen einer CD40-Defizienz und einer CD40L-Defizienz. Hierfür könnte die Tatsache Erklärung sein, dass neben CD40L noch zwei zusätzliche Liganden für CD40 existieren, nämlich C4BP und Hsp70 (Brodeur et al., 2003; Becker et al., 2002), die möglicherweise das Fehlen von CD40L bis zu einem bestimmten Grad kompensieren können.

Generell ähneln Alterungsprozesse im Gehirn denen neurodegenerativer Erkrankungen (Lee et al., 2000; Riemer et al., 2004). In beiden Fällen treten in verstärktem Maße neuroinflammatorische Prozesse auf und oxidativer Stress stellt einen wichtigen Mechanismus der Schädigung von Nervenzellen dar (Guentchev et al., 2000). Oxidativer Stress ist mit der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) verbunden und führt unter anderem auch über eine JNK-Aktivierung zum neuronalen Zelltod (Kim et al., 1999; Baek et al.; 2001; Mielke & Herdegen, 2000). Im Verlauf von TSE nimmt also einerseits der oxidative Stress zu, andererseits ist auch die Empfindlichkeit PrP^{Sc}-infizierter Neuronen gegenüber oxidativem Stress durch den Verlust an PrP^C erhöht (Milhavedt & Lehmann, 2002). Dadurch könnten neuroprotektive Mechanismen wie die durch CD40 vermittelten an Bedeutung gewinnen. So ist in späteren Stadien der Scrapie-Infektion von Mäusen

eine erhöhte Hsp70-Expression festgestellt worden (Kenward et al., 1994). Hsp70 unterdrückt einerseits in Astrozyten die Expression und Aktivität von gewebeschädigenden Matrix-Metalloproteasen (Lee, 2004), könnte andererseits aber auch durch direkte Ligandierung von neuronalem CD40 zum Schutz von Nervenzellen beitragen.

Da weder in TSE noch in der AD eine funktional relevante T Zell-Infiltration in das Gehirn zu beobachten ist (Eikelenboom et al., 2002), sind in diesen Erkrankungen neben Endothelzellen und Gefäßmuskelzellen die Astrozyten als Hauptquelle einer CD40L-Expression anzusehen. In Gehirnen von Alzheimer-Mäusen konnte auf aktivierten Astrozyten in der Umgebung von Läsionen eine CD40L-Expression festgestellt werden (Calingasan et al., 2002). Die Autoren mutmaßen, dass Astrozyten in der AD durch CD40L zur verstärkten Mikrogliaaktivierung beitragen könnten. Angesichts der oben angeführten physiologischen Funktionen des CD40-CD40L-Systems und der generellen Funktion von Astrozyten als Schutz- und Stützzellen des ZNS, könnte man die Expression von CD40L auf Astrozyten zumindest im Scrapie-Modell auch als einen Beitrag zum Schutz von Neuronen auffassen, mit denen Astrozyten in engem Kontakt stehen. Ein mögliches Modell der Scrapie-Pathogenese in den CD40L^{-/-}-Mäusen könnte wie folgt aussehen: Im Verlauf der Scrapie-Infektion entsteht zunehmend oxidativer Stress; gleichzeitig werden Neuronen durch den Verlust von PrP^C stressempfindlicher. In den CD40L^{-/-}-Mäusen ist die neuronale Stressempfindlichkeit darüber hinaus durch das Fehlen oder die eingeschränkte Funktion zweier wichtiger neuroprotektiver Mechanismen stark erhöht. Zusätzlich steht den Neuronen weniger BDNF zur Verfügung. Deshalb beginnen Neurodegeneration und Vakuolisierung und in den CD40L^{-/-}-Mäusen früher und in stärkerem Ausmaß als in den Wildtyp-Kontrollmäusen und dementsprechend erreichen sie auch wesentlich früher das terminale Krankheitsstadium.

Aufgrund fehlender Daten läßt sich auch im AD-Modell nicht abschließend sagen, ob das Fehlen der neuroprotektiven Eigenschaften von CD40L in späteren Stadien der Krankheit zum Tragen kommen könnte, denn auch in den CD40L-defizienten transgenen Alzheimer-Mäusen ist die Neuroinflammation ja nur verringert und nicht gänzlich aufgehoben.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen jedenfalls, dass neben einer übermäßigen auch eine fehlende Stimulierung des CD40-Rezeptors schädlich sein kann. Im Fall der in dieser Arbeit untersuchten scrapie-infizierten CD40L^{-/-}-Mäuse sind die fehlenden neuroprotektiven Funktionen des CD40L durch die zusätzlichen Liganden für CD40 nicht oder nur bis zu einem gewissen Grad kompensierbar.

Weiterhin liefern die Ergebnisse dieser Arbeit einen Hinweis darauf, dass die Stimulierung neuroprotektiver Signalübertragungswege ein therapeutischer Ansatzpunkt sein könnte, um in bereits manifesten Prionerkrankungen eine klinische Verzögerung des Krankheitsverlaufs zu erreichen. Es ist allerdings fraglich, ob das CD40-CD40L-System selbst dafür geeignet ist. Die enge Autoregulation dieses Systems unter physiologischen Bedingungen und die schädlichen Auswirkungen einer erhöhten Verfügbarkeit von CD40L durch eine verstärkte Einwanderung CD40L exprimierender T-Zellen in Krankheiten wie MS weisen auf die erheblichen Auswirkungen einer fortdauernd erhöhten Expression von CD40L hin.