

Axonal transport deficits in a mouse model of SPG10

(Dr. med. Kathrin Karle, Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Universitätsklinikum Tübingen)

Die hereditären spastischen Spinalparalysen (HSP) umfassen eine Gruppe genetisch und klinisch heterogener Erkrankungen. Seit der Identifizierung des ersten HSP-Gens Mitte der 90er Jahre wächst die Anzahl bekannter HSP-Gene ständig. Es kristallisieren sich jedoch gemeinsame Pathomechanismen heraus. Die Besonderheit der motorischen Nervenzellen liegt u.a. in ihren langen Fortsätzen und damit besonderen Anforderungen an den axonalen Transport. Besonders deutlich wird dies bei einer Unterform der HSP, der SPG10, die durch Mutationen im neuronalen Kinesin Heavy Chain Protein KIF5A verursacht wird. Bei Patienten liegen hauptsächlich missense Mutationen im Bereich der Motordomäne des KIF5A Proteins vor. Mäuse mit fehlendem KIF5A Protein zeigen sehr deutliche motorische Beeinträchtigungen und sterben kurz nach der Geburt (Xia CH, Roberts EA et al. (2003) Abnormal neurofilament transport caused by targeted disruption of neuronal kinesin heavy chain KIF5A. *J Cell Biol*, 161:55-66.). Histologisch erscheinen die Zellkörper der Motoneurone im Rückenmark vergrößert, die übrige histologische Untersuchung war unauffällig.

Wir kultivieren embryonale (E12,5) Motoneurone aus dem Rückenmark und sensible Neurone aus den Spinalganglien (dorsal root ganglia, DRG) und charakterisierten sie bezüglich Überlebensraten, Morphologie und Längenwachstum. Im Weiteren etablierten wir die Untersuchung des Mitochondrien-Transportes an lebenden Motoneuronen in Zellkultur. Die Überlebensraten der Motoneurone über fünf Tage in Kultur sind bei KIF5A^{-/-} Mäusen im Vergleich zu KIF5A^{+/-} und KIF5A^{+/+} statistisch signifikant reduziert. Bei sensiblen Neuronen zeigen sich bei den Überlebensraten über fünf Tage keine Unterschiede zwischen den drei Genotypen. In Motoneuronen der KIF5A^{-/-} Mäuse ist im Vergleich zu KIF5A^{+/-} und KIF5A^{+/+} Zellen das Auswachsen der Axone und der Dendriten signifikant vermindert. Die Anzahl der axonalen Äste ist reduziert, die Anzahl der Dendriten nicht verändert. Ähnlich, jedoch in geringerem Ausmaß finden sich Veränderungen bei sensiblen Nervenzellen: Das Auswachsen der Neuriten ist bei KIF5A^{-/-} Zellen im Vergleich zu KIF5A^{+/-} und KIF5A^{+/+} signifikant reduziert.

Obwohl in Neuronen verschiedene Vertreter der Kinesin-Familie vorhanden sind, kann das Fehlen von KIF5A offensichtlich nicht vollständig kompensiert werden. Um die durch den KIF5A-Verlust verursachten Effekte weiter zu verstehen, haben wir den Transport von Mitochondrien in Motoneuronen mittels time-lapse Imaging untersucht. Interessanterweise ist die maximale Transportgeschwindigkeit in KIF5A^{-/-} Motoneuronen im Vergleich zu KIF5A^{+/-} und KIF5A^{+/+} reduziert, ebenso die mittlere Transportgeschwindigkeit der sich bewegenden Mitochondrien. Bei der separaten Beurteilung des Transportes in anterograde und retrograde Richtung (bislang nur vorläufige Auswertung mit geringer Fallzahl) findet sich für den anterograden Transport eine tendenzielle Verminderung, für den retrograden Transport eine signifikante Reduktion der maximalen und mittleren Transportgeschwindigkeit.

Zusammenfassend zeigt sich bei den KIF5A^{-/-} Motoneuronen eine verminderte Überlebensrate sowie eine Beeinträchtigung des axonalen und dendritischen Wachstums. Bei sensiblen Nervenzellen finden sich beim Fortsatzwachstum ähnliche, jedoch geringer ausgeprägte Defekte. Das Überleben der sensiblen Nervenzellen ist nicht beeinträchtigt. Wir konnten zeigen, dass die Transportgeschwindigkeit von Mitochondrien in KIF5A^{-/-} Motoneuronen verlangsamt ist.

Damit stellt die KIF5A KO Maus ein gutes Modell zur Darstellung des axonalen Transportes dar. Einschränkend in der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Patienten mit SPG10 ist jedoch, dass bei Patienten mit SPG10 der genetische Defekt nicht einem knockout Mechanismus

folgt, sondern missense Mutationen mit möglichem dominant negativem Effekt vorherrschen. Dementsprechend streben wir die Generierung eines Mausmodells an, das eine der humanen pathogenen Mutationen trägt.

Axonal transport deficits in a mouse model of SPG10

Motor neurons, the cells predominantly affected in hereditary spastic paraplegias (HSP), feature an extreme anatomy with extremely long axons comprising the corticospinal tract. Pathology reveals a length-dependent degeneration of axons starting in the distal parts of the corticospinal tract leading to spasticity especially in lower limbs. At present, 16 genes causing HSP have been cloned, several of them are likely to affect axonal transport.

We have established primary motor and sensory neuron cell culture to analyse morphology and axonal transport. Axonal transport appears critical for pathogenesis of HSP, especially in SPG 10, which is caused by mutations in kinesin heavy chain (KIF5A), the neuronal motor of fast anterograde transport. We analyzed KIF5A KO mice by primary motor neuron culture and found in homozygous knockout mice a reduced survival rate and an axonal and dendritic outgrowth deficit in comparison to heterozygous and wildtype mice. Time-lapse imaging of mitochondrial movements is performed and preliminary data show a transport deficit for mitochondria in KIF5A KO motor neurons. In KIF5A KO sensory neurons, we found similar, even though less marked abnormalities.