

Lsd1 weist Stammzellen im Mausembryo den richtigen Weg

Die Epigenetik ist ein neues Forschungsfeld, das sich mit Mechanismen der Vererbung beschäftigt, die über die genetische Festlegung in der DNA hinausgehen. Epigenetische Faktoren sind es auch, die zum Beispiel für die rechtzeitige Ausbildung der Mausplazenta sorgen und die Prof. Dr. Roland Schüle, Leiter der Zentralen Klinischen Forschung am Universitätsklinikum Freiburg mit seinem Team genau unter die Lupe nimmt. Dabei entdeckten er und sein Team, dass offenbar ein bestimmtes Enzym im frühen Embryonalstadium den Stammzellen mitteilt, wann ihre Wanderung beginnen soll und welchen Weg sie einschlagen sollen. Die Erkenntnisse könnten sowohl für die Onkologie als auch für die regenerative Medizin interessant sein.



Prof. Dr. Roland Schüle untersucht das Enzym Lsd1 und seine Funktion in Stammzellen.
© privat

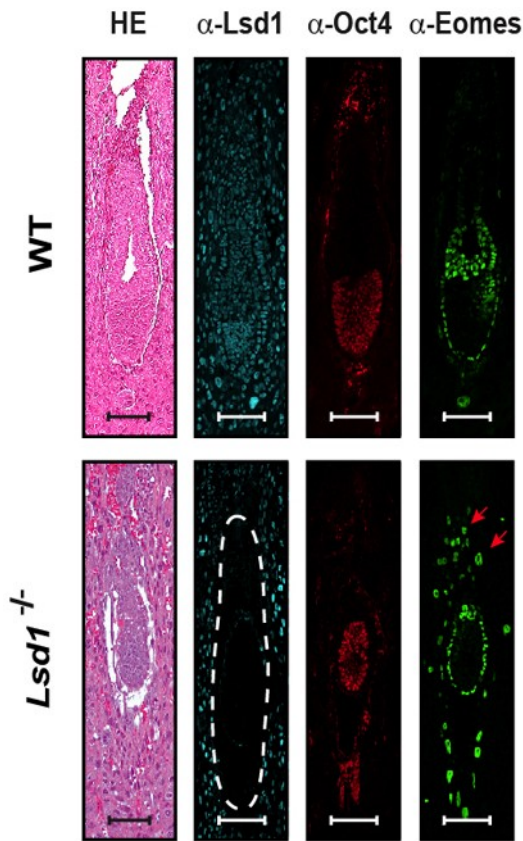
Die Epigenetik vereint sämtliche Wechselwirkungen zwischen Genen und ihren Produkten, die nicht in der DNA selbst codiert sind und die Veränderungen in der Genexpression bewirken. Mal sind es Genabschnitte, mal ganze Chromosomen, die durch epigenetische Modifikation wie DNA-Methylierung oder Histonveränderung in ihrer Aktivität beeinflusst werden. So werden manche Bereiche im Erbgut stillgelegt und andere leichter abgelesen. Bis zum 8-Zell-Stadium sind in der Entwicklung eines Säugers alle Tochterzellen gleichwertig, danach bekommen sie ein festes Programm.

Die Festlegung der funktionellen Identität einer Zelle geschieht durch die gezielte, dauerhafte Aktivierung oder Inaktivierung von Genen durch hochspezifische biochemische Veränderungen an einzelnen Basen der DNA-Sequenz oder an einzelnen Aminosäuren der sie umgebenden Histone. So entstehen große Unterschiede in den Modifikationsmustern von Keim-, Stamm-, Krebs- und Körperzellen. Prof. Dr. Roland Schüle, Leiter der Zentralen Klinischen Forschung am Universitätsklinikum Freiburg und Mitglied im Zentrum für Biologische Signalstudien (BIOSS), erforscht die der Epigenetik zugrunde liegenden Mechanismen und betrachtet dabei insbesondere Methylierungen an Histonen. Meist handelt es sich bei den Modifikatoren um Proteine, aber auch RNA-Moleküle können an der Stilllegung der DNA beteiligt sein.

Lesen, Löschen und Interpretieren

Laut Schüle lassen sich die Proteinmodifikatoren in drei Klassen einteilen: Writer-Proteine, die eine epigenetische Markierung wie Methylgruppen ans Chromatin anbringen, Reader-Proteine, die sie lesen oder interpretieren und Eraser-Proteine, die Markierungen wieder entfernen. Zur dritten Gruppe gehört das Enzym, das es Schüle ganz besonders angetan hat, die lysinspezifische Demethylase 1 (Lsd1), die eine vorhandene Methylierung an der Aminosäure Lysin im Histon beseitigt.

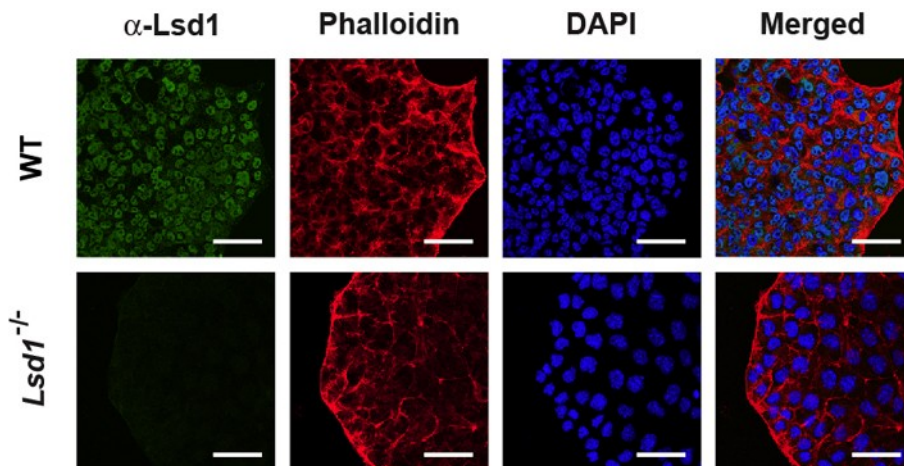
Über sein Lieblingsprotein kam Schüle zur Stammzellforschung, als er feststellte, dass Lsd1 in der Embryonalentwicklung eine zentrale Schaltstelle darstellt. Es schien ein lebensnotwendiges Protein zu sein. Denn schaltete man es durch Knockout aus, verstarben die Mausembryonen bereits nach wenigen Tagen im Mutterleib. „Warum stirbt die Maus? Welcher molekulare Mechanismus steckt dahinter?“, fragt Schüle und ergänzt: „Im Lauf der Analysen fanden wir heraus, dass Lsd1 ein wichtiger Regulator für Stammzellen ist.“ In der Entwicklung der Maus entsteht aus der befruchteten Eizelle nach wenigen Tagen die Blastozyste, eine Hohlkugel aus zwei Schichten, dem inneren Embryoblast und dem äußeren Trophoblast. Damit sich aus dem Trophoblasten die embryonale Plazenta und die Eihäute bilden können, müssen sich die darin befindlichen Trophoblast-Stammzellen zu bestimmten Zellarten entwickeln.



Stammzellmarker (Oct4, Eomes) zeigen eine unterschiedliche Verteilung der Zellen des Trophektoderms im Wildtyp (WT) und in der *Lsd1*-defizienten Mutante (*Lsd1*^{-/-}) eines 6 Tage alten Embryos. In der Mutante befinden sich die Trophektodermzellen außerhalb der Stammzellnische (rote Pfeile; Größenmaßstab 200 µm).
© Dr. Thomas Günther, Universitätsklinikum Freiburg

Dieser Vorgang der Vermehrung und Differenzierung muss streng kontrolliert werden, nur so können ausreichend Zellen für das Plazentagewebe bereitgestellt und gleichzeitig ein Reservoir an Stammzellen erhalten werden. Kommt das entscheidende Signal, wandern die Trophektoderm-Stammzellen aus, um die mütterliche Plazenta zu erreichen und eine embryonale Plazenta zur Versorgung zu etablieren.

Verlust von *Lsd1* bedeutet Mobilität für Stammzellen



Lsd1 dirigiert die Migration von Trophektodermstammzellen. Färbung des Zytoskeletts (rot) und der Zellkerne (blau) im Wildtyp und in *Lsd1*-defizienten Mutanten (Größenmaßstab 100 µm).
© Dr. Thomas Günther, Universitätsklinikum Freiburg

Während ihrer Wanderung beginnen die Zellen mit der Differenzierung in Trophektoderm-Riesenzellen, Spongio- oder Syncytio-Trophektoderm, die später unterschiedliche Regionen der Plazenta bilden. Bei genauer Betrachtung wird klar, dass eine Stammzelle, die *Lsd1* verliert, die Eigenschaft zur plötzlichen Migration gewinnt. Es fehlt ihr die Information, dass sie so lange Stammzelle bleiben und an Ort und Stelle verweilen muss, bis ihre Zeit gekommen ist. Erklärbar wird dies durch ein zweites Protein, den Transkriptionsfaktor *Ovol2*. In undifferenzierten Zellen unterdrückt *Lsd1* die Expression von *Ovol2*, indem es seinen Promotor demethyliert. Fällt diese Hemmung weg, wird *Ovol2* zu einem früheren Zeitpunkt angeschaltet als normal und die Zellen werden mobil.

Gleichzeitig differenzieren die Zellen vorzugsweise in Trophektoderm-Riesenzellen statt in die drei verschiedenen Vorstufen der Plazentazellen. „Hier sind zwei Funktionen durch *Lsd1* reguliert, die auf den ersten Blick nichts miteinander zu tun haben“, erklärt Schüle, „die Fähigkeit zur Migration und zur korrekten Ausdifferenzierung.“ Wie *Lsd1* im Detail diese beiden Funktionen reguliert, ob durch plötzliche Demethylierung des Chromatins oder durch das Ausbleiben der Demethylierung, ist derzeit Thema der Untersuchungen im Schüle-Labor.

Zelldifferenzierung und Krebs

Über die Aufgaben von Lsd1 im adulten Organismus ist bislang noch wenig bekannt. Man weiß, dass es für die Ausbildung von Fettzellen verantwortlich ist und im Mäusehirn die Differenzierung bestimmter Neuronen in Riechrezeptoren reguliert. Schaltet man es nur in der Hypophyse aus, ist das Wachstum dieser Mäuse gehemmt. Schüle und andere Forscher konnten bereits zeigen, dass Lsd1 die Differenzierungsrichtung beeinflusst, die Stammzellen einschlagen.

Grundsätzlich besteht somit die Möglichkeit, Lsd1 gezielt zu regulieren und so die Generation bestimmter Zelltypen zu steuern. Für die regenerative Medizin ist dies ein vielversprechender Aspekt. Das Team um Schüle versucht, Lsd1 rundum zu verstehen, indem es Fehlregulationen des Enzyms näher beleuchtet. „Unsere Vorgehensweise, die Physiologie und Pathologie eines Proteins zu untersuchen, ist, dass wir dieses Gen im lebenden Mausmodell überexprimieren oder ausschalten“, schildert Schüle. Außerdem arbeitet er mit Knockin-Mäusen, denen eine Mutation ins fragliche Protein eingeführt wird. So lässt sich untersuchen, ob für das Ausüben der richtigen Funktion ein Multiproteinkomplex oder nur das Protein notwendig ist. „Wir haben zum Beispiel eine Maus generiert, die lediglich ein enzymatisch inaktives Lsd1 exprimiert“, so der Wissenschaftler. „Auf diese Weise können wir in der lebenden Maus sehen, welche Bedeutung der enzymatischen Funktion Lsd1 selbst zukommt.“

Die Überexpression von Lsd1 in der Maus führt im hohen Alter zur Entwicklung von Tumoren in Prostata und Lunge. Warum das so ist, ist Forschungsgegenstand der nächsten Jahre. Kleine Biotechnologiefirmen haben bereits reagiert und setzen auf die Entwicklung von Lsd1-Inhibitoren, um die Medikamentenentwicklung in der Krebstherapie voranzutreiben.