

Neurobiologie

Molekulare Kontrolle der Stabilität und Plastizität von Synapsen

ZEESHAN MUSHTAQ, JAN PIELAGE

ABTEILUNG FÜR ZOOLOGIE UND NEUROBIOLOGIE, TU KAISERSLAUTERN

The precise regulation of synaptic connectivity is essential for the processing of information in the brain. Any aberrant loss of synaptic connectivity due to genetic mutations will disrupt information flow in the nervous system and may represent the underlying cause of psychiatric or neurodegenerative diseases. Therefore, identification of the molecular mechanisms controlling synaptic plasticity and maintenance is essential for our understanding of neuronal circuits in development and disease.

DOI: 10.1007/s12268-021-1639-8

© Die Autoren 2021

■ Das Erzeugen von Verhaltensmustern bei Tieren basiert auf neuronalen Schaltkreisen, die sensorische Informationen wahrnehmen, integrieren und in motorische Signale umsetzen. Zentrales Element dieser Schaltkreise sind synaptische Verbindungen zwischen Neuronen im zentralen Nervensystem bzw. zwischen Neuronen und Muskeln im peripheren Nervensystem. Für die Verarbeitung

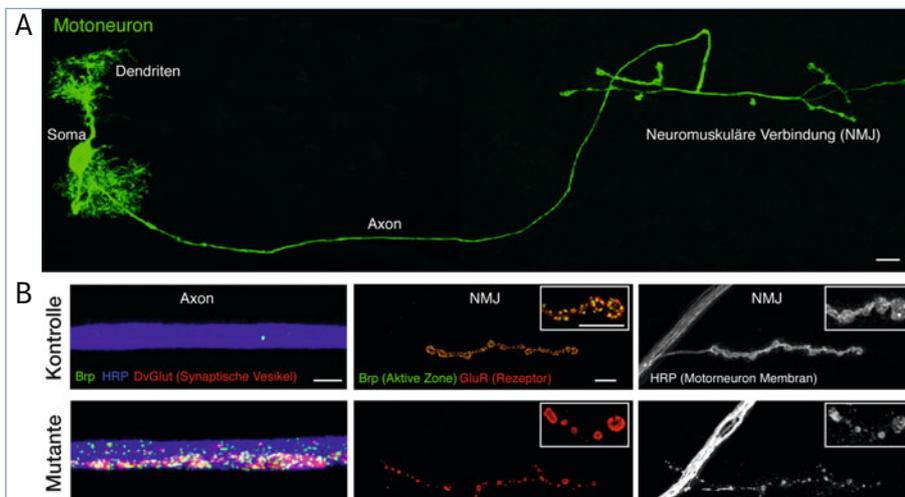
und das Speichern von Informationen sind sowohl die Bildung korrekter Verbindungen als auch funktionelle und strukturelle Anpassungen der synaptischen Verbindungen von entscheidender Bedeutung. In den vergangenen Jahren ermöglichten Kombinationen von genetischen und biochemischen Ansätzen große Fortschritte hinsichtlich unseres Verständnisses der molekularen Mechanismen

der axonalen Wegfindung [1] und der Synapsenbildung [2]. Für die Aufrechterhaltung der Funktion des Nervensystems ist es entscheidend, dass synaptische Verbindungen über lange Zeit stabil gehalten werden können. Diese Stabilität bezieht sich sowohl auf funktionelle als auch strukturelle Aspekte zentraler und peripherer Synapsen.

Genetische Mutationen, die zu einem Verlust synaptischer Stabilität führen, sind per se potenzielle Ursachen progressiver neurodegenerativer oder neuropsychiatrischer Erkrankungen, da der Informationsfluss innerhalb des Nervensystems nicht mehr aufrechterhalten werden kann. Der Verlust synaptischer Konnektivität ist eines der ersten Kennzeichen nahezu aller neurodegenerativer Erkrankungen des Menschen, wie z. B. bei der amyotrophen Lateralsklerose (ALS), der Alzheimer-Krankheit (AD) oder anderer progressiver Neuropathien [3]. Einhergehend mit dieser Symptomatik des Verlusts synaptischer Konnektivität werden häufig Störungen des axonalen Transports beobachtet. Hierbei ist zurzeit häufig noch unklar, ob Defekte des axonalen Transports ursächlich oder sekundäre Konsequenzen der Erkrankung sind [4].

Drosophila als Modellsystem für neurodegenerative Erkrankungen

Für die Herstellung kausaler Zusammenhänge zwischen Beeinträchtigungen des axonalen Transports und synaptischen Defekten ist es essenziell, dass beide Phänotypen gleichzeitig analysiert werden können. Eine solche Analyse gestaltet sich in komplexen Nervensystemen der Vertebraten oft schwierig. Die Verwendung von *Drosophila*-Motoneuronen als Modellsystem hingegen erlaubt eine simultane Analyse axonaler und synaptischer Phänotypen und ermöglicht eine präzise Beschreibung und Quantifizierung struktureller und funktioneller synaptischer Defekte. Die larvalen Motoneurone haben komplexe Dendritenbäume innerhalb des zentralen Nervensystems und senden ein Axon zu den peripheren Muskeln, um dort



▲ **Abb. 1:** *Drosophila*-Motoneurone als Modellsystem für synaptische Stabilität und Plastizität. **A,** Die genetische Markierung eines einzelnen Motoneurons erlaubt die gleichzeitige Analyse aller neuronaler Kompartimente. **B,** Die vergleichende Analyse zeigt Defekte in axonalem Transport und synaptischer Stabilität. Es kommt zu einem Verlust von Proteinen der aktiven Zone (Bruchpilot, Brp) und einer Fragmentierung der synaptischen Membran. Maßstab: 10 µm.

elaborierte neuromuskuläre Verbindungen zu bilden (*neuromuscular junction*, NMJ; **Abb. 1**).

Innerhalb der NMJ ist die Visualisierung aller individueller Synapsen durch eine Ko-Färbung mit dem präsynaptischen aktiven Zonen-Marker Bruchpilot (Brp) und post-synaptischen Glutamatrezeptoren (GluR) möglich (**Abb. 1B, Abb. 2D**). Gleichzeitig kann die Morphologie der NMJ durch eine Färbung der Motoneuronmembran analysiert werden (**Abb. 1B, Kontrolle**). Defekte in der Stabilität der synaptischen Verbindungen zeigen sich als ein Verlust der Apposition der beiden synaptischen Marker, da der Abbau der postsynaptischen Glutamatrezeptoren erst mit deutlicher zeitlicher Verzögerung stattfindet [5]. Zugleich kommt es zu einer Fragmentierung der Zellmembran des Motoneurons (**Abb. 1B, Mutante**).

Die synaptische Degeneration beginnt zumeist am terminalen synaptischen Bouton und betrifft dann progressiv weitere Bereiche der neuromuskulären Verbindung, bis es zu

einem kompletten Verlust der Muskelinnervation kommt. Diese Phänotypen konnten bisher u. a. bei Mutationen in Zelladhäsionsmolekülen, Scaffold-, Cytoskelettkomponenten und Regulatoren sowie in Signaltransduktionsmolekülen beobachtet werden, die die Koordination zwischen Prä- und Postsynapse regulieren [5–7]. Interessanterweise kommt es auch in *Drosophila*-Motoneuronen zu einem gleichzeitigen Auftreten von axonalen Transportdefekten (**Abb. 1B, unteres Panel, [5]**). Hervorzuheben ist, dass die grundlegenden zellbiologischen Mechanismen zwischen Fliege und Menschen konserviert sind, da Mutationen in korrespondierenden Genen bei Mausmodellen und beim Menschen zu Neurodegeneration und psychiatrischen Defekten führen [8]. Die Kombination von gezielten genetischen Manipulationen mit *in vivo*-Mikroskopie dieses einfach zugänglichen Systems bietet nun die Möglichkeit, die molekularen und zellulären Mechanismen der zugrunde liegenden Prozesse aufzuklären. So können genetische

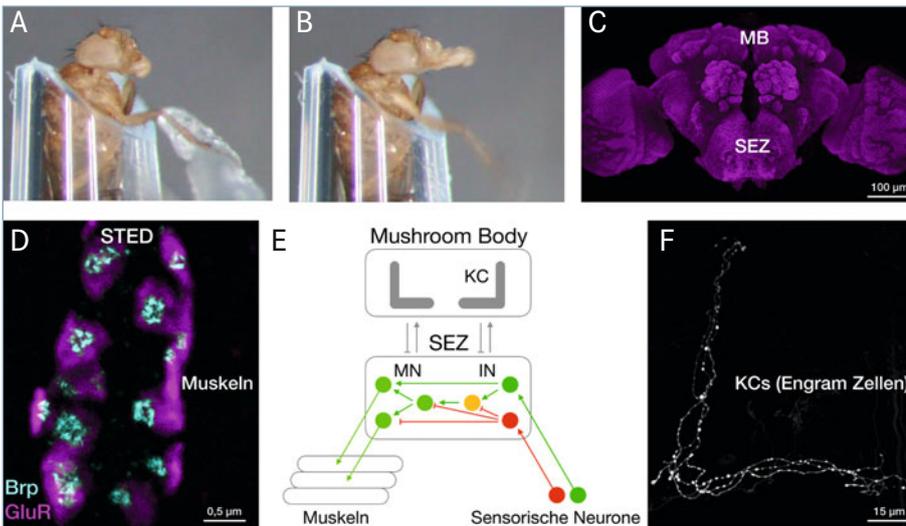
Eingriffsmöglichkeiten definiert werden, die anschließend im Mausmodell auf ihr therapeutisches Potenzial getestet werden können. Ein interessanter Ansatzpunkt ist z. B. die Verbesserung der funktionellen Plastizität, da kürzlich ein direkter Zusammenhang zwischen der Regulation der präsynaptischen Homöostase und synaptische Degeneration im Fliegen und Mausmodell nachgewiesen werden konnte [9].

Analyse komplexer Schaltkreise für Geschmackserkennung, Lernen und Gedächtnis

Zur Aufklärung der grundlegenden Mechanismen der synaptischen Plastizität ist das neuromuskuläre System von *Drosophila* prädestiniert, da hier die Struktur und Funktion einzelner synaptischer Verbindungen mithilfe von Super-Resolution-Mikroskopie (*stimulated emission depletion*, STED-Mikroskopie, **Abb. 2D**) möglich ist und zugleich mithilfe elektrophysiologischer Ableitungen die funktionellen Parameter bestimmt werden kön-

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer



▲ Abb. 2: Zelluläre und molekulare Kontrolle komplexer Verhaltensmuster. **A–B,** Stimulation von Geschmacksrezeptoren an den Füßen der Fliege löst ein stereotypes Ausstrecken des Rüssels aus. **C,** das adulte Gehirn. Die Bereiche des Geschmacksschaltkreises (SEZ) und des Gedächtnisses (MB) sind markiert. **D–F,** neuronale Kontrolle der Geschmacksantwort und des Gedächtnisses. Sensorische Neurone leiten positive (grün) und negative (rot) Geschmackseindrücke an Interneurone (IN) in der subesophagealen Zone (SEZ). Dort wird das Signal prozessiert und an Motoneurone (MN) weitergeleitet (E). Ziel ist ein Verständnis der molekularen Mechanismen der Bewegungskontrolle mithilfe von Super-Resolution-Mikroskopie (STED, D) und anhand genetischer Markierung von Gedächtniszellen (F).

nen. Für unser Verständnis komplexer Informationsverarbeitung im Gehirn ist eine Übertragung der gewonnenen Erkenntnisse sowohl auf einfache als auch auf komplexe neuronale Schaltkreise notwendig. Die kürzliche Erstellung des kompletten synaptischen Konnektoms großer Teile des adulten Gehirns von *Drosophila* [10] ermöglicht nun eine systematische Analyse der Zusammenhänge zwischen synaptischer Funktion und Verhalten. Beispiel für einen sensorisch-motorischen Schaltkreis ist die Antwort der Fliege auf einen positiven Geschmacksstimulus. Die Aktivierung gustatorischer sensorischer Neurone an den Beinen der Fliege durch Zucker löst in Tieren stereotypisches Verhalten aus; die Fliege streckt ihren Rüssel in Richtung der Futterquelle (**Abb. 2A, B**). Diese Antwort stellt keinen einfachen Reflex dar, sondern wird nur nach Abgleich mit dem internen Zustand der Fliege (z. B. Hunger) ausgelöst. Hierfür verantwortlich sind wenige Neurone der 100.000 Neurone des Fliegengehirns innerhalb des subesophagealen Zentrums (SEZ) (**Abb. 2C, E**). Diese Neurone können selektiv aktiviert oder inhibiert werden, um so ihre Funktion innerhalb des Schaltkreises aufzuklären [11].

Das synaptische Konnektom des Gedächtniszentrums der Fliege ermöglicht nun, zusammen mit der Möglichkeit Gedächtnisneurone genetisch zu markieren und mani-

pulieren (**Abb. 2F**, [12]), auch die molekularen und zellulären Grundlagen der Gedächtnisbildung zu erforschen. Hier kann die Funktion von Kandidatengenen, die die strukturelle oder funktionelle Plastizität einzelner synaptischer Verbindungen an der NMJ beeinflussen, gezielt für Lernen und Gedächtnis getestet werden. Diese korrelative Analyse genetischer Funktionen an einzelnen Synapsen und innerhalb komplexer Schaltkreise erweitert so unsere Kenntnisse der normalen Entwicklung des Nervensystems und ermöglicht zugleich neue Einblicke in die Entstehung und Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen. ■

Literatur

- [1] Evans TA, Bashaw GJ (2010) Axon guidance at the midline: of mice and flies. *Curr Opin Neurobiol* 20: 79–85
- [2] Van Vactor D, Sigrist SJ (2017) Presynaptic morphogenesis, active zone organization and structural plasticity in *Drosophila*. *Curr Opin Neurobiol* 43: 119–129
- [3] Yaron A, Schuldiner O (2016) Common and divergent mechanisms in developmental neuronal remodeling and dying back neurodegeneration. *Curr Biol* 26: R628–R639
- [4] Holzbaur ELF, Scherer SS (2011) Microtubules, axonal transport, and neuropathy. *N Engl J Med* 365: 2330–2332
- [5] Stephan R, Goellner B, Moreno E et al. (2015) Hierarchical microtubule organization controls axon caliber and transport and determines synaptic structure and stability. *Dev Cell* 33: 5–21
- [6] Enneking E-M, Kudumala SR, Moreno E et al. (2013) Transsynaptic coordination of synaptic growth, function, and stability by the L1-type CAM Neuroglian. *PLoS Biol* 11: e1001537
- [7] Bulat V, Rast M, Pielage J (2014) Presynaptic CK2 promotes synapse organization and stability by targeting Ankyrin2. *J Cell Biol* 204: 77–94
- [8] Smith KR, Kopeikina KJ, Fawcett-Patel JM et al. (2014) Psychiatric risk factor ANK3/ankyrin-G nanodomains regulate the structure and function of glutamatergic synapses. *Neuron* 84: 399–415
- [9] Orr BO, Hauswirth AG, Celona B et al. (2020) Presynaptic homeostasis opposes disease progression in mouse models of ALS-like degeneration: evidence for homeostatic neuroprotection. *Neuron* 107: 95–111
- [10] Takemura SY, Aso Y, Hige T et al. (2017) A connectome of a learning and memory center in the adult *Drosophila* brain. *Elife* 6: e26975
- [11] Schwarz O, Bohra AA, Liu X et al. (2017) Motor control of *Drosophila* feeding behavior. *Elife* 6: e19892
- [12] Siegenthaler D, Escibano B, Bräuler V et al. (2019) Selective suppression and recall of long-term memories in *Drosophila*. *PLoS Biol* 17: e3000400

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Jan Pielage
 Abteilung Zoologie-Neurobiologie
 Technische Universität Kaiserslautern
 Erwin-Schrödinger-Straße 13
 D-67663 Kaiserslautern
 pielage@bio.uni-kl.de
 www.bio.uni-kl.de/zoologie

AUTOREN



Zeeshan Mushtaq

2005–2010 Biologiestudium an der Bangalor University, Indien. Anschließend von 2011–2016 wissenschaftlicher Mitarbeiter am IISER-Bhopal im Labor von Dr. V. Kumar. Seit 2017 Doktorand an der TU Kaiserslautern im Labor von Prof. Dr. J. Pielage.



Jan Pielage

1993–2002 Biologiestudium an der Universität Kaiserslautern, dem University College London, UK, und der Universität Münster mit anschließender Promotion unter Anleitung von Prof. Dr. C. Klämbt. 2003–2007 Postdoktorand an der University of California, San Francisco (UCSF), USA, im Labor von Prof. Dr. G. Davis. 2008–2016 Junior Gruppenleiter am Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research in Basel, Schweiz. Seit 2016 Professor für Zoologie und Neurobiologie an der TU Kaiserslautern.