

EIN LEBEN

**OHNE
ALTERN**

WIE STAMMZELLEN DEN SÜSSWASSERPOLYPEN HYDRA UNSTERBLICH MACHEN

THOMAS W. HOLSTEIN

Stammzellen sind Alleskönner. Aus einigen von ihnen können nahezu alle Zelltypen eines Organismus hervorgehen, sie sind die Grundlage jeder Entwicklung und die Voraussetzung für lebenslange Anpassung. Vom Süßwasserpolyphen Hydra – einem uralten, einzigartig einfach gebauten Tier mit unvergleichlicher Regenerationskraft – wollen die Wissenschaftler die Geheimnisse der Stammzellen erfahren: Was bestimmt ihre Eigenschaften? Und wie haben die faszinierenden Zellen im Laufe der Evolution komplexe Zellsysteme entstehen lassen? Die Hoffnung ist, aus dem Studium der Stammzellen und dem Verständnis ihrer erstaunlichen Fähigkeiten neue Ansätze zu finden, um Alterungsprozesse aufzuhalten.

D

Die sagenhafte Hydra galt als unsterblich. Wer auch immer dem Ungeheuer in den Sümpfen von Lerna an der Küste des Peloponnes gegenübertrat und ihm die Köpfe abschlug, musste erleben, wie sie unversehens wieder nachwuchs. Das faszinierende Wesen aus der griechischen Mythologie war vermutlich nicht allein ein Produkt der Fantasie, sondern ging auf Erlebnisse zurück, die die alten Griechen mit tatsächlich existierenden Lebewesen, wahrscheinlich mit Seeanemonen, gemacht hatten: Die Meereslebewesen mit ihren schlangenartigen Fangarmen waren ihnen jedenfalls sehr vertraut, sie zieren Vasen und Schmuckstücke aus antiker Zeit und standen damals auf dem Speisezettel.

Seeanemonen gehören wie Korallen und Quallen zu den Nesseltieren, einer Gruppe einfach gebauter, vielzelliger Tiere, die das Meer und einige Süßgewässer bewohnen und in ihren Fangarmen (Tentakeln) einen charakteristischen Zelltyp, sogenannte Nesselzellen, besitzen, mit denen sie Nahrung fangen. Früheste Fossilien der Nesseltiere sind über 600 Millionen Jahre alt. Das macht sie zu den ältesten vielzelligen Tieren (Metazoa) in der Evolution. Auch die tentakelbewehrten Süßwasserpolyphen zählen zu den Nesseltieren. Ihren wissenschaftlichen Namen „Hydra“ erhielten sie in Anlehnung an die griechische Mythologie im Jahr 1758 von dem berühmten schwedischen Naturforscher Carl von Linné.

Die bis zu drei Zentimeter großen Süßwasserpolyphen besiedeln weltweit saubere und ruhige Süßgewässer und



PROF. DR. THOMAS W. HOLSTEIN leitet seit dem Jahr 2004 die Abteilung für Molekulare Evolution und Genomik am „Centre for Organismal Studies“ (COS) der Universität Heidelberg und ist stellvertretender Sprecher des Heidelberger Stammzell-Sonderforschungsbereiches 873. Er war Marsilius-Fellow (2010 und 2011), Dekan der Fakultät für Biowissenschaften (2007–2012) und Vorstand des Instituts für Zoologie (2004–2010), des heutigen Centre for Organismal Studies Heidelberg. Zuvor hatte er Professuren für Molekulare Zellbiologie (TU Darmstadt, 1997–2004) und Zell- und Entwicklungsbiologie (Universität Frankfurt, 1993–1997) sowie Gastprofessuren an der Universität Wien (1993–1995) inne.

Kontakt: thomas.holstein@cos.uni-heidelberg.de



können sich – ähnlich wie Pflanzen – ungeschlechtlich (asexuell) vermehren, indem sie von ihrem Körper Knospen abschnüren. Deshalb wurden die Süßwasserpolyen zuerst als Pflanzen klassifiziert. Erst Abraham Trembley, ein in Genf geborener Forscher, beschrieb Hydra im Jahr 1744 als Tier mit komplexen Verhaltensmustern und einer bemerkenswerten Fähigkeit zur Regeneration.

Den epochalen Arbeiten von Abraham Trembley folgten weitere Studien, die zeigten, dass die Fähigkeit, verloren gegangene Körperteile wieder zu ersetzen, ein im Tierreich zwar verbreitetes Phänomen ist, dass sie aber im Laufe der Evolution bis hin zum Menschen abnimmt und zumeist auf einzelne Organe oder Gewebe beschränkt bleibt. Unser Labor in Heidelberg beschäftigt sich mit Hydra und verwandten Organismen, um mit diesen „lebenden Fossilien“ grundlegende Mechanismen der Regeneration und Entwicklung zu identifizieren, die auch für Wirbeltiere (Vertebraten) und den Menschen bedeutend sind.

Die Tatsache, dass Hydra nicht altert, ihre unvergleichliche Regenerationskraft und ihre basale Stellung im Stammbaum des Lebens ermöglichen wichtige Einsichten, auch für das Verständnis des menschlichen Körpers. Im Zentrum der Forschung stehen Stammzellen: Zellen, die fähig sind, sich dauerhaft selbst zu vermehren und zu unterschiedlichen Zelltypen heranzureifen; die Biologen sprechen von „Differenzierung“. Unsere Arbeiten sind Teil eines interdisziplinären Sonderforschungsbereichs zu Stammzellen, an dem Forscher aus den Naturwissenschaften und der Medizin beteiligt sind.

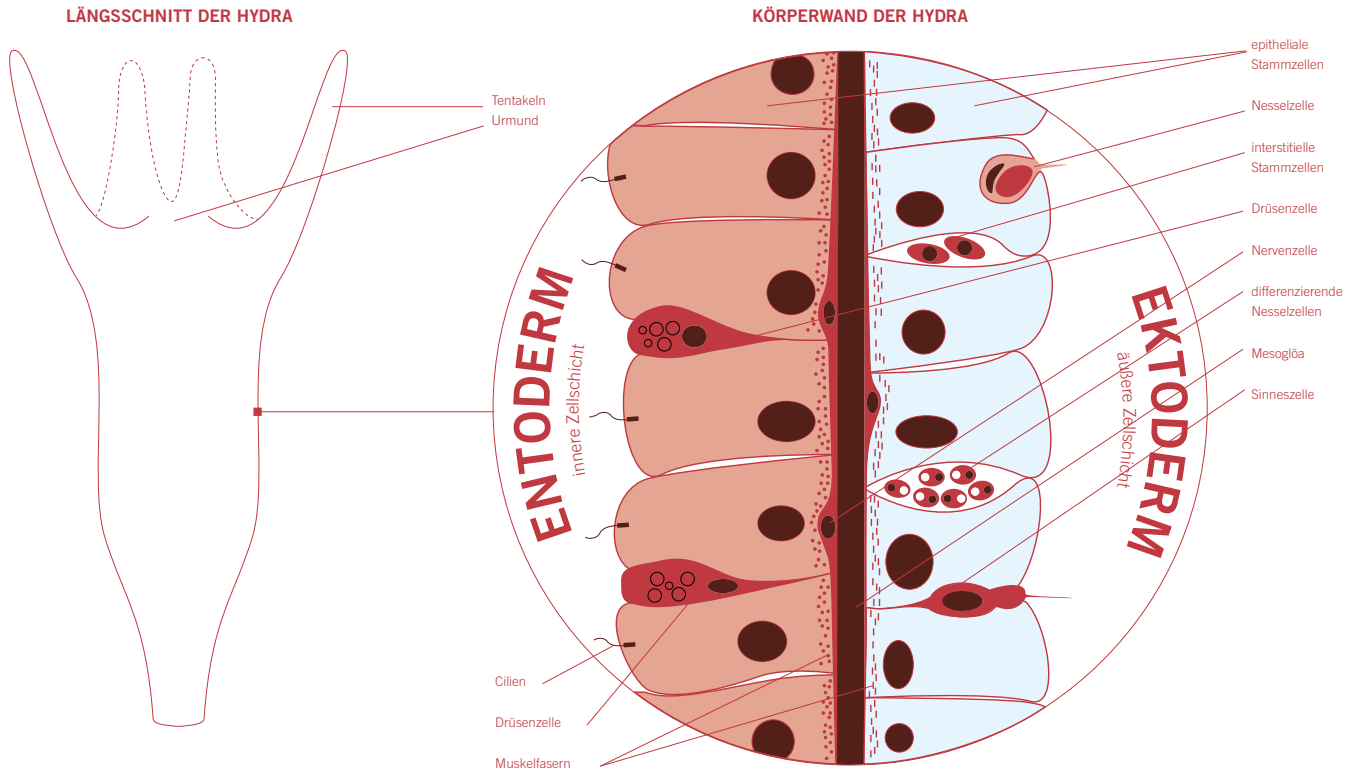
Ewiger Embryo

Süßwasserpolyen sind einfach gebaut. Ihr Körper ist sackartig, unten befindet sich eine Fußscheibe, oben der von Tentakeln umstandene Mund. Die Körperwand wird von einer äußeren und einer inneren einlagigen Zellschicht (Ekto- und Entoderm) gebildet. Dieser Bauplan entspricht der „Gastrula“ (nach dem griechischen Wort „gastron“ für Magen), einem Stadium in der Embryonalentwicklung, das von allen Tieren durchlaufen wird. Während der ungeschlechtlichen Vermehrung entstehen die Knospen als Ausstülpungen der Körperwand. Sie lösen sich nach ein bis zwei Tagen vom Körper ab und entwickeln sich zu neuen Polypen fort.

Eine wichtige Frage lautet: Wie lange kann sich ein Polyp auf diese Weise vermehren? Nach allen derzeit verfügbaren Daten lautet die Antwort: unbegrenzt. Wissenschaftler haben die Vermehrungsraten von Polypen über fünf Jahre lang analysiert, ohne dass Veränderungen festzustellen waren. Im Labor wurden verschiedene Stämme mehr als fünfzig Jahre lang ungeschlechtlich vermehrt, ohne dass Anzeichen von Alterung (Seneszenz) aufgetreten wären. Dies entspricht über 5000 Zellteilungen – ein deutlicher Hinweis darauf, dass Hydra im biologischen Sinne unsterblich ist. Bei Tieren, die sich ungeschlechtlich fortpflanzen, sind auch die Differenzierungsprozesse ständig aktiv. Sie besitzen damit die Eigenschaften eines „permanenten Embryos“.

Alle Arten von Hydra vermehren sich nicht allein ungeschlechtlich mit Knospen, sondern auch sexuell mit Keim- oder Geschlechtszellen (Gameten). Zur sexuellen Vermehrung kommt es meist aber erst dann, wenn sich die Umweltbedingungen verschlechtern. Bei *Hydra oligactis*, ei-





ner Art, die in kalten Gewässern lebt, tritt häufig eine sogenannte irreversible Depression auf, wenn sich Geschlechtszellen bilden. Dies kann als Alterung interpretiert werden.

Stammzellen der Hydra

Das Geheimnis der unbegrenzten Lebenszeit von Hydra sind ihre Stammzellen. Wir unterscheiden verschiedene Stammzelllinien. Die „epithelialen Stammzellen“ von Hydra kommen in den Epithelien, also in der inneren (Entoderm) und der äußeren Körperwand (Ektoderm) vor und bestimmen die Gestalt des Polypen; sie bilden Muskelfasern, scheiden verschiedene Stoffe aus und nehmen Nahrung auf. Aus epithelialen Stammzellen entstehen auch die Knospen für die ungeschlechtliche Vermehrung. Ein weiterer bei Hydra vorkommender Stammzelltyp sind die „interstitiellen Stammzellen“. Sie befinden sich zwischen den Zellen von Ento- und Ektoderm im sogenannten Interstitium. Diese Stammzellen sind auch „multipotent“: Ihnen stehen verschiedene zelluläre Entwicklungsmöglichkeiten offen. Sie können zu Drüsen-, Nerven-, Nessel- oder zu Keimzellen werden. Wie in allen Stammzellsystemen entstehen aber aus mehr als der Hälfte des Stammzellreservoirs wieder neue Stammzellen.

Besonders interessant ist, wie aus interstitiellen Stammzellen die Keimzellen hervorgehen: Wenn sich ein Tier

entwickelt, werden normalerweise diejenigen Zellen, die den Körper bilden – die somatischen Zellen – von den Keimzellen separiert. Diese Trennung von „Soma“ und „Keimbahn“ ist äußerst wichtig, denn in den somatischen Körperzellen können sich im Laufe eines Lebens Genveränderungen (Mutationen) anhäufen. Zudem verkürzen sich die Enden (Telomeren) der Chromosomen bei jeder Zellteilung – ist eine kritische Länge unterschritten, können sich die somatischen Zellen nicht mehr geordnet teilen: sie altern und sterben. Die Keimbahnzellen hingegen, aus denen die neue Generation hervorgehen soll, sind vor Alterung geschützt. Sie besitzen ein spezielles Enzym (Telomerase), das die Enden der Chromosomen nach jeder Zellteilung wieder verlängert. Das bedeutet: Nur die Keimbahnzellen können sich über Generationen hinweg unbeschadet vermehren und sind letztlich unsterblich.

Bei Hydra indes ist es anders: Soma- und Keimbahnzellen sind nicht streng voneinander getrennt. Sowohl Stamm- wie Keimbahnzellen von Hydra besitzen ein unbegrenztes Potenzial, zu wachsen. Experimente zeigten kürzlich, dass Keimbahnzellen zwar kontinuierlich aus interstitiellen Stammzellen hervorgehen, sie können sich aber ebenfalls unbegrenzt teilen. Damit besteht ein unbegrenztes Reservoir für männliche (Spermien) und weibliche Geschlechts-

Sonderforschungsbereich zur Stammzellforschung

Der Sonderforschungsbereich „Selbsterneuerung und Differenzierung von Stammzellen“ (SFB 873) wurde 2010 für eine Dauer von vier Jahren an der Universität Heidelberg eingerichtet. Die beteiligten Wissenschaftler – darunter auch Prof. Dr. Thomas W. Holstein – wollen die grundlegenden Mechanismen identifizieren, die den Selbsterhalt und die Differenzierung von Stammzellen steuern. In einfachen Modellsystemen sollen die Prinzipien der Stammzellsteuerung entziffert und dann auf komplexere Lebensformen bis hin zum Menschen projiziert werden.

Koordiniert wird der SFB an der Medizinischen Fakultät Heidelberg; Sprecher ist Professor Dr. Anthony D. Ho, Ärztlicher Direktor der Abteilung Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie. Mitwirkende Institutionen sind neben den Medizinischen Fakultäten Heidelberg und Mannheim das Centre for Organismal Studies Heidelberg (COS), das Institut für Angewandte Mathematik sowie das Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg und das Deutsche Krebsforschungszentrum (DKFZ).

zellen (Eizellen). Wir vermuten, dass für die unbegrenzte Reproduktionsfähigkeit der Stammzellen ähnliche Mechanismen verantwortlich sind wie die, die Keimzellen davor schützen, zu altern.

Weil epitheliale und interstitielle Stammzellen sich ständig vermehren, ist ein Gleichgewicht (Homöostase) der beiden Populationen erforderlich. Epitheliale Stammzellen verdoppeln sich innerhalb von drei bis vier Tagen, interstitielle Stammzellen in nur 1,5 Tagen. Die überschüssig produzierten interstitiellen Zellen differenzieren sich in verschiedene Zelltypen (siehe oben). Diese Art der Gewebe-Homöostase und Wachstumskontrolle ist sehr effizient: Bei Hydra sind keine Tumoren bekannt – in anderen Organismen entstehen Tumoren dann, wenn das Wachstum aufgrund unkontrollierter Zellteilungen aus der Balance gerät.

Wie die verschiedenen Stammzelllinien von Hydra miteinander kommunizieren und das Wachstum kontrollieren, ist noch wenig verstanden. Man kennt beispielsweise kleine Eiweiße (Peptide), die von Nerven- und Epithelzellen gebildet werden und eine regulatorische Rolle spielen könnten. Auch die Umgebung, die sogenannte Stammzellnische, ist für die Wachstumskontrolle wichtig: Erst die Stammzellnische ermöglicht das Gleichgewicht von Teilung und Differenzierung.

Stammzelltypische Moleküle

Die Erbanlagen von Hydra umfassen rund 20.000 Gene. Eine Reihe von Genen, die bei Hydra in den Stammzellen und Keimbahnzellen von der DNS (Erbmolekül) abgelesen und über Ribonukleinsäuren (RNS) in Proteine übersetzt (exprimiert) werden, kommen bei Wirbeltieren auch in somatischen Stammzellen vor. Darunter befinden sich zwei Proteine namens Piwi und Vasa, die an RNS mit regulato-

rischer Funktion binden können. Bei Säugetieren wurden Proteine – Nanog, Oct4 und Sox2 – identifiziert, die direkt an das Erbmolekül (DNS) binden und auf diese Weise Gene an- oder abschalten. Proteine mit solcherart regulatorischer Funktion werden Transkriptionsfaktoren genannt. Von den Transkriptionsfaktoren Nanog, Oct4 und Sox2 ist bekannt, dass sie Zellen, die bereits ausgereift sind, in den Zustand der „Pluripotenz“ zurückversetzen können: Das befähigt die Zellen wieder dazu, zu verschiedenen Zelltypen auszureifen. Wichtig sind auch die Transkriptionsfaktoren Myc und Klf4. Sie sorgen dafür, dass die Eigenschaften der Stammzellen zur Vermehrung erhalten bleiben.

Außer Sox2 und Myc kommen die meisten dieser Transkriptionsfaktoren nur in Säugetieren und nicht in anderen Tiergruppen vor. Dies lässt vermuten, dass einige der regulatorischen Stammzellgene im Laufe der Evolution neu entstanden sind. Bei Hydra und anderen Nesseltieren werden die Gene Myc und Sox2 sowie Piwi und Vasa in interstitiellen Stammzellen beziehungsweise in Keimbahnzellen abgelesen und in Proteine übersetzt.

Die Beschaffenheit der Stammzellnische und das Ausreifen der Stammzellen zu Zellen mit besonderer Funktion werden von löslichen Signalfaktoren bestimmt oder von Signalfaktoren, die in der äußeren Membran der Zellen verankert sind. Eine Schlüsselrolle kommt dem sogenannten β -Catenin/Wnt-Signalweg zu. Beim Menschen steuert er unter anderem die Differenzierung von Stammzellen im Darm und im Knochenmark. Wenn sich die Gene verändern, die für die Signalfaktoren des β -Catenin/Wnt-Signalweges zuständig sind, werden verschiedene Typen von Krebs ausgelöst. Auch bei Hydra spielt der Wnt-Signalweg eine zentrale Rolle: Er ist wichtig für die epithelialen Stammzellen und den Aufbau eines Signalzentrums (Organisator), das die Musterbildung des Körpers steuert. Bei Nessel- und Wirbeltieren werden die Gene des Wnt-Signalweges im Embryo aktiviert, und zwar genau dann, wenn sich während der Gastrulation der Urmund und die Keimblätter bilden, aus denen später die verschiedenen Organe hervorgehen. Wahrscheinlich bilden lösliche Wnt-Proteine einen Konzentrationsgradienten, der Transkriptionsfaktoren aktiviert, die das Schicksal der Stammzellen steuern.

Ein grundlegendes Prinzip des Lebens

Wenn wir verstehen, welche Moleküle die Stammzellen von Hydra regulieren, können wir womöglich auch nachvollziehen, welche Moleküle für die unbegrenzte Regenerationsfähigkeit verantwortlich sind. Stammzellen sind ein grundlegendes Prinzip des Lebens von Tieren und Pflanzen, und Fehlregulationen der Stammzellerneuerung können Menschen und andere Säugetiere frühzeitig altern oder an Krebs erkranken lassen. Wir wollen mit unseren Forschungsarbeiten Wege eröffnen, um eine fehlregulierte Stammzellerneuerung gezielt zu beeinflussen. ●

THOMAS W. HOLSTEIN

FOREVER YOUNG

HOW STEM CELLS MAKE HYDRA IMMORTAL

Like corals, sea anemones and jellyfish, the freshwater polyp *Hydra* belongs to the phylum Cnidaria. Cnidarians are basal animals that can be traced back more than 600 million years. They were the first animals to develop a nervous system, yet they also share some remarkable features with plants that cannot be found in higher animals: they exhibit an almost unlimited regeneration capacity that makes them effectively immortal.

The immortality of cnidarians can be ascribed to their asexual mode of reproduction that requires cells with an unlimited capacity for self-renewal. We propose that the basic properties of animal stem cells are tightly linked to this archaic mode of reproduction. Cnidarian stem cells can give rise to various cell types, including germ line cells. The genomes of *Hydra* and *Nematostella*, representatives of two major cnidarian classes, have been sequenced; both show a surprising complexity (20,000 genes) that is comparable to the genomes of vertebrates. All major signalling pathways and transcription factors found in higher animals including humans are already present on this early evolutionary level.

Recent work indicates that highly conserved signalling pathways including canonical Wnt signalling play an important role in *Hydra* stem cell differentiation. The availability of genomic resources and novel technologies provide approaches to analyse these cells in vivo. Studies of stem cells in *Hydra* and other cnidarians will therefore give us important insights into the basic mechanisms of stem cell biology. By studying stem cells and coming to understand their extraordinary abilities, we also hope to develop new therapies to prevent early ageing. ●

PROF. DR. THOMAS W. HOLSTEIN has directed the Department of Molecular Evolution and Genomics at the Centre for Organismal Studies (COS) of Heidelberg University since 2004 and is vice-spokesman of the Heidelberg Stem Cell Collaborative Research Centre 873. He was a Marsilius Fellow (2010 and 2011), Dean of the Faculty of Biosciences (2007 to 2012) and Director of the Institute of Zoology (2004 to 2010). He previously held professorships in Molecular Cell Biology (TU Darmstadt, 1997 to 2004) and Cell and Developmental Biology (Frankfurt University, 1993–1997) as well as visiting professorships at the University of Vienna (1993–1995).

Contact: thomas.holstein@cos.uni-heidelberg.de

BREAKING THE VICIOUS CYCLE

A PROTEIN IMPROVES MEMORY IN LATE LIFE

As we get older, our cognitive abilities decline steadily. Researchers of Heidelberg University have now found that the concentration of a certain protein, Dnmt3a2, may have an impact on these abilities. A study conducted under the direction of Prof. Dr. Hilmar Bading at the Interdisciplinary Center for Neurosciences (IZN) shows that an increased quantity of Dnmt3a2 in the brain of old mice leads to an improvement of the animals' memory.

The research team believes that similar results could be achieved in humans. A drug that could be used to increase the protein's levels is not yet in sight. But the researchers have observed that the production of Dnmt3a2 is also stimulated by brain activity. The logical conclusion: mental activity improves our memory in old age. ●

DEN TEUFELSKREIS DURCHBRECHEN

EIN PROTEIN VERBESSERT DIE GEDÄCHTNISLEISTUNG IM ALTER

Im Alter nehmen die kognitiven Fähigkeiten stetig ab. Wissenschaftler der Universität Heidelberg haben nun entdeckt, dass die Konzentration eines bestimmten Proteins diese Fähigkeiten möglicherweise beeinflusst. Eine Studie, die unter der Leitung von Prof. Dr. Hilmar Bading am Interdisziplinären Zentrum für Neurowissenschaften (IZN) durchgeführt wurde, zeigt: Wird die Menge des betreffenden Proteins im Gehirn alter Mäuse erhöht, verbessert sich ihre Gedächtnisleistung.

A

Allgemein wird angenommen, dass Kalziumsignale eine wichtige Rolle bei verschiedenen kognitiven Fähigkeiten wie zum Beispiel der Gedächtnisbildung spielen. Wenn unser Gehirn aktiv ist und neue Informationen eine Nervenzelle erreichen, fließt Kalzium in die Zelle. Das Kalzium muss nun in den Zellkern weitergeleitet werden, damit verschiedene Gene reguliert werden können. Von weiterer Bedeutung sind chemische Markierungen entlang der DNA, die erfahrungsabhängige Veränderungen am Genom mit sich führen und damit die Genregulation zusätzlich beeinflussen. Für diese chemischen Markierungen ist das untersuchte Protein mit dem Namen Dnmt3a2 verantwortlich.

Seit einiger Zeit ist bekannt, dass sich die chemischen Markierungen an der DNA im Alter verändern. Diese Veränderungen korrelieren mit kognitiven Defiziten. Die Neurobiologen um Prof. Bading haben nun herausgefunden, dass Dnmt3a2 – das für die Markierungen maßgebliche Protein – im Gehirn von alten Mäusen nicht mehr ausreichend vorhanden ist. „Ohne dieses Protein ist sozusagen eine Tür zur Speicherung neuer Informationen geschlossen oder zumindest sehr viel schwerer zu öffnen“, erklärt Prof. Bading. „Da die Regulierung des Proteins wiederum von Hirnaktivität abhängig ist, kann durch die verringerte Menge des Proteins ein Teufelskreis in Gang gebracht werden, sodass die kognitiven Fähigkeiten mit der Zeit stetig abnehmen.“

Die Entwicklung neuer Medikamente könnte Hoffnung geben, diese Abwärtsspirale zu unterbrechen, so die Wissenschaftler. Diese Medikamente müssten entweder die Konzentration von Dnmt3a2 wiederherstellen oder die Aktivität der noch vorhandenen Menge erhöhen. „Bei alten Mäusen sind wir in der Lage, dies zu erreichen“, erläutert Prof. Bading. „Wenn wir die Konzentration von Dnmt3a2 im Gehirn der Tiere mithilfe von Gentherapiemethoden erhöhen, gewinnen die Mäuse ihre Fähigkeit zur Gedächtnisbildung zurück.“ Da die grundlegenden Prozesse beim Menschen vermutlich gleich sind, ist es laut Prof. Bading möglich, „dass man auch beim Menschen über eine Erhöhung der Aktivität von Dnmt3a2 ähnliche Ergebnisse erzielen könnte“. Zwar zeichnet sich noch kein konkreter medikamentöser Ansatz ab, die Beobachtung der Forscher, dass Gehirnaktivität Dnmt3a2 stimuliert, bedeutet aber für den Alltag: Geistige Aktivität fördert die Gedächtnisleistung im Alter. ●