

Evolutionäre Altersforschung

FoxO und die Alterung sterblicher und unsterblicher Organismen

FRIEDERIKE FLACHSBART¹, THOMAS C. G. BOSCH²

¹ INSTITUT FÜR KLINISCHE MOLEKULARBIOLOGIE, UNIVERSITÄT KIEL

² ZOOLOGISCHES INSTITUT, UNIVERSITÄT KIEL

Understanding aging and how it affects an organism's life span is a fundamental problem in biology. A journey into the evolutionary past of multicellular organisms facilitates the view of the function of FoxO during aging. Medicine and evolutionary developmental biology recognize the significance of FoxO. But basic research faces also new questions.

DOI: 10.1007/s12268-014-0513-3

© Springer-Verlag 2014

■ Europas Bevölkerung wird immer älter. Dies stellt die Gesellschaft mit ihren sozialen und gesundheitlichen Sicherungssystemen vor große Herausforderungen. Es ist daher wichtig zu verstehen, wie und warum wir altern, um zu erreichen, dass wir gesünder alt werden. Die Genetik kann für ca. 30 Prozent der Variabilität der menschlichen Lebensspanne verantwortlich gemacht werden (**Abb. 1**), aber über die verantwortlichen Effektorgene ist noch verhältnismäßig wenig bekannt [1–3]. Beim Menschen verlieren mit zunehmendem Alter mehr und mehr Stammzellen ihre Fähigkeit, neue Zellen zu bilden [2]. Altern des Gewebe kann sich dadurch kaum noch regenerieren, sodass sich beispielsweise Muskeln abbauen. Gelänge es, diesen Prozess zu beeinflussen, würden sich alte Menschen länger wohl fühlen und körperlich fit bleiben. Verschiedene genetische Mechanismen wurden in den vergangenen Jahren entdeckt und ihre regulatorischen Einflüsse auf die Zellalterung untersucht. Faktoren wie Umweltbedingungen, Lebensgewohnheiten, Ernährungsverhalten und Stressbewältigung scheinen von außen auf die zellulären Prozesse des Alterns einzuwirken. Alterungsprozesse beim Menschen führen sowohl zu einer Verschlechterung der angeborenen wie der erworbenen Immunantwort und zu einem pro-inflammatorischen Status. Die Medizin hat dafür die Fachbegriffe Immunseneszenz (*immunosenescence*) und *inflamm-aging* (Entzündungsaltern) einge-

führt. Die dabei auftretenden biochemischen Veränderungen sind noch nicht verstanden [4]. Auch exakte „Altersmarker“ zu identifizieren, ist noch nicht gelungen. Altern ist damit eines der nur wenig verstandenen Phänomene der Biologie.

Unsterblichkeit durch sich unbegrenzt teilende Stammzellen bei *Hydra*

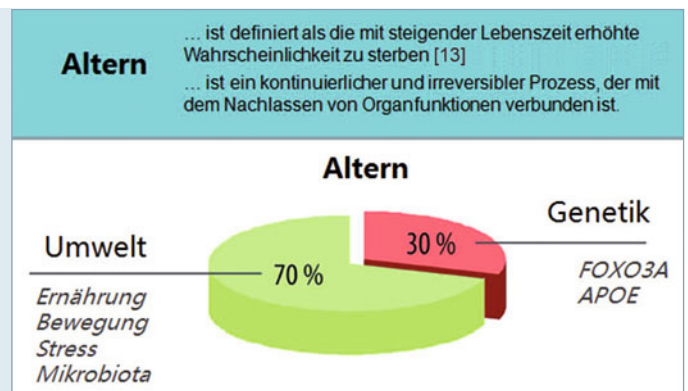
Der winzige Süßwasserpolymp *Hydra* gehört zu den wenigen Tieren, deren Sterblichkeit sich über das ganze Leben nicht verändert. *Hydra* zeigt keinerlei Alterungsprozesse und gilt daher als potenziell unsterblich [5]. Dieses vermeintliche Paradox eines unsterblichen Organismus hat eine relativ einfache biologische Erklärung: In *Hydra* erfolgt die Vermehrung ausschließlich ungeschlechtlich durch Knospung (**Abb. 2A**). Diese Art der Vermeh-

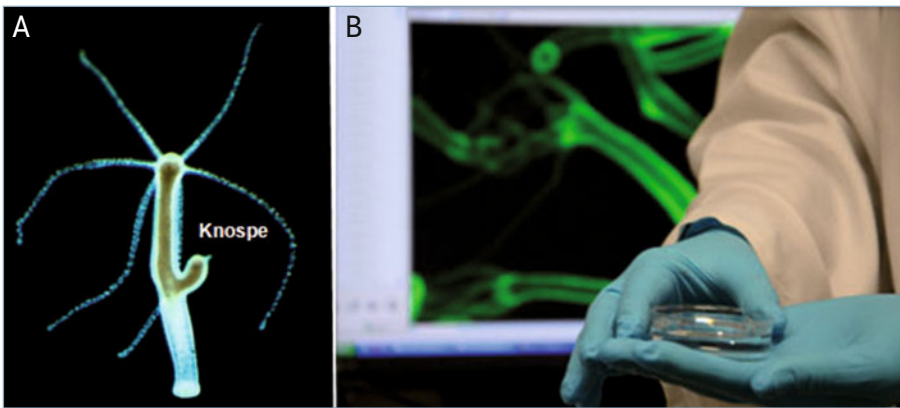
rung setzt voraus, dass jeder individuelle Polyp eine Fülle von Stammzellen enthält, die sich ständig teilen können und mit denen die neuen Knospen ausgestattet werden können. Die Tiere setzen sich aus zwei Schichten, dem Ektoderm und dem Entoderm, zusammen. Alle Zelltypen in *Hydra* entspringen drei voneinander unabhängigen Stammzelllinien, ektodermalen und entodermalen Epithelzellen sowie den zwischen den ektodermalen Epithelzellen eingelagerten interstitiellen Stammzellen. Da ein Großteil der Zellen insbesondere im Rumpfbereich Stammzellcharakter hat [6], macht der Anteil der Stammzellen in *Hydra* einen viel größeren Prozentsatz aus als beispielsweise im Darmepithel des Menschen. Und anders als beim Menschen verlieren die Stammzellen der *Hydra* weder ihre Fähigkeit, sich zu teilen, noch ihre Funktionsfähigkeit.

Hydra als Modellsystem

Hydra ist seit vielen Jahren nicht nur ein interessantes Objekt für die Stammzell- und Alterungsforschung; *Hydra* wird auch studiert, um die Bildung räumlich gegliederter Strukturen biochemisch und molekular zu verstehen. Daneben steht in diesem Stammesgeschichtlich uralten Vielzeller die Entwicklung des angeborenen Immunsystems im Fokus des Forschungsinteresses. Mittlerweile ist das Genom von *Hydra* entschlüsselt, und viele Gene sind auch funktionell verstanden. Die Mehrzahl weist Sequenzähnlichkeit zu Genen

► **Abb. 1:** Einfluss von Genetik und Umwelt auf Alterungsprozesse beim Menschen. Modifiziert aus [2].





▲ **Abb. 2:** Der Süßwasserpolyp *Hydra*. **A**, Die ungeschlechtliche Fortpflanzung über Knospung macht die Tiere im Labor unsterblich. **B**, *Hydra* kann in Plastikschalen in Massenkultur gehalten und beliebig vermehrt werden. Transgene Hydren [8] erlauben dem Entwicklungs- und Evolutionsbiologen neue Einsichten in Genfunktion und Zellverhalten.

auf, die bereits von komplexeren Tieren und auch vom Menschen bekannt sind. Das Auffinden dieser Gene in *Hydra* impliziert, dass diese Gene – und viele der molekularen Mechanismen, welche die Entwicklungsprozesse bei Mensch und Tier regulieren – zeitig in der Evolution der Vielzeller entstanden sind. Genetische Komplexität ist damit uralt und keineswegs ein Merkmal von sogenannten „höheren“ Tieren. Mechanismen, die sich so lange erhalten haben, sind die bewährten Erfolgsrezepte der Evolution. Auch die Stammzellen in *Hydra* sprechen eine ähnliche molekulare Sprache wie Stammzellen höherer Tiere; vieles deutet daher auf einen gemeinsamen evolutionären Ursprung dieser Zellen hin [7]. Dank eines breiten Spektrums an verfügbaren Technologien für die funktionale Analyse von Genen (**Abb. 2B**, siehe auch [8]) bietet *Hydra* die Möglichkeit, grundlegende Konzepte der Biologie auszuarbeiten und fundamentale Prinzipien zu entschlüsseln, auf die alle Organismen zurückgreifen. *Hydra*-Polypen mit ihren sich ständig teilenden Stammzellen bieten daher ideale Voraussetzungen, um die elementaren Vorgänge des Alterns in einem leicht zu manipulierenden Tiermodell zu erforschen und zu verstehen.

Zusammenhang zwischen FoxO und dem Alter

Cynthia Kenyon von der University of California in San Francisco hat im Jahr 1993 in einer spektakulären Studie gezeigt, dass sich das Leben von Fadenwürmern durch eine einzige Mutation verdoppeln lässt [9]. Einer der entscheidenden Faktoren dabei ist der FOXO-Transkriptionsfaktor DAF-16, der durch Signalmoleküle wie Insulin und Insulin-ähnliche Wachstumsfaktoren (IGF) durch Phos-

phorylierung inaktiviert und im Zytoplasma festgehalten wird (**Abb. 3**). FoxO/DAF-16 nimmt Einfluss auf die Expression einer Fülle verschiedener Zielgene, die die Lebensdauer der Zelle maßgeblich beeinflussen können [10]. In Säugetieren wurden vier FoxO-Gene identifiziert (*FOXO1*, *FOXO3*, *FOXO4*, *FOXO6*), während die bislang untersuchten Wirbellosen nur je einen Vertreter dieser Genfamilie haben (*FoxO* in *Hydra*, *daf-16* in *Caenorhabditis elegans*, und *dFoxO* in *Drosophila*) [10]. Verschiedene Umweltsignale können die Translokation von FoxO in den Zellkern induzieren. Die Regulation von FoxO erfolgt meist über den Insulinrezeptor.

FoxO gilt beim Menschen als sogenanntes Langlebigkeitsgen. Menschen, die das biblische Alter von 100 Jahren überschritten haben, tragen auffallend oft eine Sequenzvariation des Gens *FOXO3A* im Erbgut [3]. Mithilfe von vergleichenden Genomanalysen von Hunderten hochalten sowie jüngeren Probanden konnte bereits vor sechs Jahren gezeigt werden, dass diese Genvariante eine hohe Lebenserwartung beeinflusst [1, 11]. Bei den anderen Gen-Mitgliedern der FoxO-Familie lässt sich dieser Zusammenhang nicht feststellen. Wie genau diese *FOXO3A*-Genvariante zur Langlebigkeit beiträgt, wird aktuell in verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht.

Das Langlebigkeitsgen FoxO spielt auch bei Hydra eine wichtige Rolle

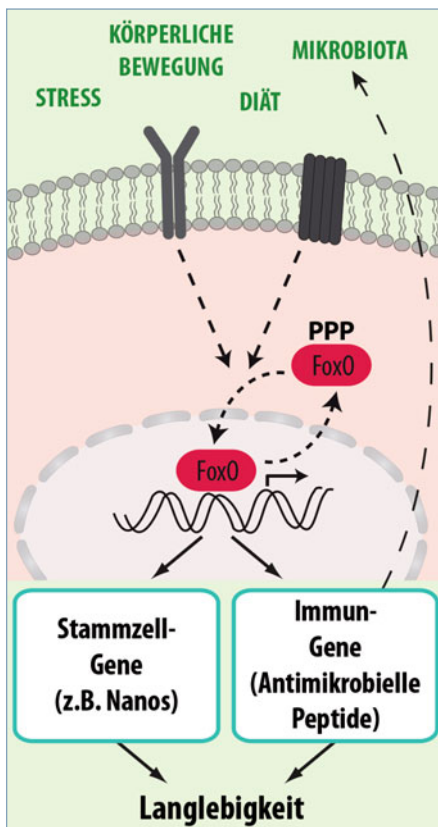
Auf das *FoxO*-Gen in *Hydra* sind wir eher zufällig gestoßen beim Bemühen, Licht in das Rätsel der unbegrenzten Teilungsfähigkeit der Stammzellen zu bringen. Durch einen Vergleich der Transkriptome der drei Stammzelltypen hofften wir herauszufinden, welche Gene für die ungewöhnliche Eigenschaft der

unbegrenzten Teilungsfähigkeit verantwortlich sind. Dazu haben wir alle drei Stammzelllinien genetisch mit dem Reporterprotein GFP (grün fluoreszierendes Protein) markiert (**Abb. 2B**), durch einen Fluoreszenz-aktivierten Zellsortierer isoliert und anschließend im Hochdurchsatzverfahren sequenziert [12]. Das *FoxO*-Gen fiel uns in diesem vergleichend-quantitativen Ansatz auf, weil es zur Signatur aller drei Stammzellpopulationen gehörte.

Um die Funktion des *FoxO*-Gens in *Hydra* zu untersuchen – und so besser zu verstehen, ob und ggf. welche Rolle es bei den Alterungsprozessen des Menschen spielt –, stellen wir transgene Tiere her, die entweder besonders viel FoxO-Protein synthetisierten oder sehr wenig davon [12]. Eine erhöhte FoxO-Proteinsynthese führt zu einer verstärkten Zellteilung und bringt selbst terminal differenzierte *Hydra*-Zellen dazu, einen Stammzellcharakter anzunehmen. In Tieren, in denen das *FoxO*-Gen weitgehend ausgeschaltet ist, verringert sich entsprechend die Rate der Zellteilung. Überraschenderweise ändert sich in diesen Knock-down-Tieren aber zusätzlich auch das angeborene Immunsystem [12]. Insbesondere die antibakteriellen Peptide, mit denen die Tiere die Zusammensetzung der Mikrobiota (d. h. der besiedelnden Bakterien) kontrollieren, sind von der FoxO-Aktivität abhängig [12].

Die duale Funktion von FoxO

In *Hydra* scheint der Transkriptionsfaktor FoxO ein Schlüsselmolekül zu sein, das eine Verbindung zwischen Gewebehomöostase und angeborener Immunität herstellt [2]. Und nicht nur in *Hydra*, auch in der Fruchtfliege *Drosophila* greift *dFoxO*, das durch ein reduziertes Insulinsignal aktiviert wird, in die Synthese der antimikrobiellen Peptide ein und moduliert damit je nach den vorherrschenden Umweltbedingungen den Immunstatus des Tieres. Eine wesentliche Aufgabe des Darmepithels ist es, die für die Entwicklung und Gesundheit essenzielle mikrobielle Darmflora zu kontrollieren. Eine veränderte FoxO-Aktivität führt damit nicht nur zu einer geänderten lokalen Mikrobiota, sondern außerdem zu sekundären physiologischen Veränderungen. Und damit wird auch der Zusammenhang mit den Altersprozessen deutlich. Altersbedingte Veränderungen im Gewebe (z. B. reduzierte FoxO-Aktivität) haben unmittelbaren Einfluss auf die Mikrobiota. Veränderungen in der Mikrobiota wiederum sind an diversen Krankheitsbildern beteiligt, die im Alter vermehrt auftreten.



▲ **Abb. 3:** Schema der beim Alterungsprozess beteiligten Gen-Umwelt-Interaktionen. Experimentelle Untersuchungen an diversen Modellorganismen ermöglichen die Entschlüsselung der molekularen Basis von Gen-Umwelt-Interaktionen (Lebensstil-Faktoren wie Stress, körperliche Aktivität, kommensale Mikroben und Ernährung), denen eine Relevanz bei Alterungsprozessen zukommt. Einer der entscheidenden Faktoren dabei ist der Transkriptionsfaktor FoxO, der durch Phosphorylierung inaktiviert und im Zytoplasma festgehalten wird. Signale aus der Umwelt können diese Modifikation verhindern und zur Translokation von FoxO in den Zellkern führen, wo er eine Vielzahl von Zielgenen reguliert. Modifiziert aus [2].

Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Alterungsprozess und dem *FoxO*-Gen wird damit sehr wahrscheinlich.

Wie viel *Hydra* steckt im Menschen?

Ähnlich drastische Veränderungen des Immunsystems wie bei den genetisch veränderten Hydren treten auch bei Menschen in hohem Alter auf (*immuno-aging*) [4]. FoxO ist daher mit großer Wahrscheinlichkeit ein entscheidender Einflussfaktor beim Altern – auch beim Menschen [1]. Eine Aktivierung von FoxO hat damit prinzipiell das Potenzial, altersbedingte funktionelle Einschränkungen zu reduzieren und die Lebensspanne nicht nur von Zellen, sondern von Organismen zu

verlängern. Dieser Erkenntnisfortschritt erscheint grandios, und doch sind wir noch längst nicht am Ziel. Altern ist ein komplexer Prozess. Denn neben dem genetischen Einfluss von etwa 30 Prozent verbleiben noch 70 Prozent, die von der Umwelt bestimmt werden (**Abb. 1**, [3]). Wie greift die Umwelt in die Regulation von FoxO ein, einem tief in der Zelle sitzenden Transkriptionsfaktor? Welche Signalwege außer dem bereits bekannten Insulinsignalweg sind beteiligt? Welche Rolle spielt die Interaktion mit den Mikroben?

Dreierlei wissenschaftliche Schlüsse lassen die neuen Erkenntnisse zu. Zum einen bestätigen sie, dass das *FoxO*-Gen eine entscheidende Rolle in der Erhaltung von Stammzellen und somit der Bestimmung der Lebensspanne spielt – vom ursprünglichen Nesseltier bis hin zum Menschen. Zum anderen verdeutlichen sie, dass der Alterungsprozess und die Langlebigkeit eines Organismus tatsächlich von zwei wesentlichen Faktoren abhängig sind: der Erhaltung von Stammzellen und der Aufrechterhaltung eines funktionellen Immunsystems. Und schließlich sind die Arbeiten ein überzeugendes Beispiel, wie ein Verständnis von grundlegenden Prozessen der Geweberegulation in einem stammesgeschichtlich alten Organismus in einen klinisch wichtigen Bezug gesetzt werden kann. Wir sind überzeugt, dass ein besseres Verständnis der Kommunikations- und Steuerungsprozesse zwischen Umwelt und *FoxO*-Gen sicherlich hilfreich sein wird, neue Ansätze zu einem gesunden Altern zu entwickeln. *Hydra* scheint mit seinem *FoxO*-Gen nicht nur das Geheimnis für ein langes, sondern auch für ein gesundes Leben zu hüten. ■

Literatur

- [1] Willcox BJ, Donlon TA, He Q et al. (2008) FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:13987–13992
- [2] Boehm AM, Rosenstiel P, Bosch TCG (2013) Stem cells and aging from a quasi-immortal point of view. *Bioessays* 35:994–1003
- [3] Deelen J, Beekman M, Capri M et al. (2013) Identifying the genomic determinants of aging and longevity in human population studies: progress and challenges. *Bioessays* 35:386–396
- [4] Salminen A, Huuskonen J, Ojala J et al. (2008) Activation of innate immunity system during aging: NF- κ B signaling is the molecular culprit of inflamm-aging. *Ageing Res Rev* 7:83–105
- [5] Baudisch A, Vaupel JW (2012) Evolution. Getting to the root of aging. *Science* 338:618–619
- [6] Bosch TCG (2009) Evolutionäres Vermächtnis: Stammzellen in *Hydra*. *Biologie in unserer Zeit* 39:114–122
- [7] Hemmrich G, Khalturin K, Boehm AM et al. (2012) Molecular signatures of the three stem cell lineages in *hydra* and the emergence of stem cell function at the base of multicellularity. *Mol Biol Evol* 29:3267–3280
- [8] Wittlieb J, Khalturin K, Bosch TCG (2010) Transgene *Hydra* als vielseitiges Modellsystem in „EvoDevo“. *BIOspektrum* 2:186–188
- [9] Kenyon C, Chang J, Gensch E et al. (1993) A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 366:461–464
- [10] Carter ME, Brunet A (2007) FOXO transcription factors. *Curr Biol* 17:R113–R114
- [11] Flachsart F, Caliebe A, Kleindorp R et al. (2009) Association of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:2700–2705
- [12] Boehm AM, Khalturin K, Anton-Erxleben F et al. (2012) FoxO is a critical regulator of stem cell maintenance in immortal *Hydra*. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:19697–19702
- [13] Gavrilov LA, Gavrilova NS (2003) The quest for a general theory of aging and longevity. *Sci Aging Knowledge Environ* 28:RE5

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Dr. h. c. Thomas C. G. Bosch
Christian-Albrechts-Universität Kiel
Zoologisches Institut
Am Botanischen Garten 1–9
D-24118 Kiel
Tel.: 0431-880-4169
Fax: 0431-880-4747
tbosch@zoologie.uni-kiel.de
www.uni-kiel.de/zoologie/bosch

AUTOREN



Friederike Flachsart

1998–2004 Biologiestudium an der Universität Kiel, dort 2008 Promotion (Dr. rer. nat.) am Institut für Klinische Molekularbiologie. 2013 Habilitation im Fachgebiet „Klinische Molekularbiologie“ an der Medizinischen Fakultät der Universität Kiel.



Thomas Bosch

1976–1983 Biologiestudium an der Universität München und dem University College Swansea, UK. 1986 Promotion (Dr. rer. nat.) an der Universität München. 1986–1988 Postdoc, University of California, Irvine, USA. 1993 Habilitation im Fachgebiet Zoologie an der Universität München. 1997–1999 Professor für Spezielle Zoologie, Universität Jena. Seit 2000 Professor und Direktor, Zoologisches Institut, Universität Kiel.