

Dicht und durchlässig: Molekulare Organisation von Tight junctions entschlüsselt

Sie dichten Epithelzellen ab und lassen unter bestimmten Bedingungen Ionen und Wasser durch: Tight junctions bilden eine parazelluläre Barriere in Geweben und ihre Funktionsstörung wird mit Krankheiten in Verbindung gebracht, die von Lungenödemen bis hin zu entzündlichen und metabolischen Störungen reichen. Ihre molekularen Komponenten sind schon seit den 1990er Jahren bekannt, nicht jedoch wie, sich die 26 Proteine namens Claudine miteinander organisieren. Tiefe Einblicke in die Struktur der Tight junctions haben nun Wissenschaftler vom Leibniz- Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie (FMP) mit Hilfe der hochauflösenden Lichtmikroskopietechnik STED gewinnen können. Damit wurde erstmals der grundlegende Mechanismus für alle Epithelbarriere-Eigenschaften beschrieben. Die Ergebnisse der Arbeit sind soeben im renommierten Fachmagazin „Nature Communications“ erschienen.

Nur das Nötige durchlassen, ansonsten eine dichte Barriere bilden – Tight junctions (TJ) gelingt das normalerweise hervorragend, um unser Körperinneres vor Bakterien und ihren Toxinen zu schützen. Die parazellulären Barrieren, die gleichzeitig selektive Ionen- und Wasserkanäle sein können, findet man überall dort, wo Epithelzellen oder Endothelzellen aufeinandertreffen, also verschiedene Gewebe aneinandergrenzen oder wenn das Lumen eines Organs gegen den Blutstrom abgedichtet werden muss.

Dass es Tight junctions gibt, weiß man ungefähr seit 60 Jahren, und seit 30 Jahren sind deren molekulare Hauptkomponenten bekannt: Es sind 26 Membranproteine namens Claudine, die sich je nach Zelle in verschiedenen Konstellationen zu semipermeablen bis zu einige hundert Nanometer breiten Netzwerken organisieren. In der Regel tun sich mehrere Claudine zusammen, manche Barrieren bestehen aber nur aus einem oder zwei der Strukturproteine.

Doch wie organisieren sich Claudine eigentlich, um je nach Zelle bzw. Gewebe unterschiedliche Barriere-Eigenschaften anzunehmen? Und wie sehr sind die Claudine dabei aufeinander angewiesen? Diese Fragen blieben bislang unbeantwortet, weil niemand die Struktur der nur ca. zehn Nanometer dicken Stränge durchschauen konnte. Nun ist genau das Wissenschaftlern vom FMP mit Hilfe der STED Mikroskopie gelungen.

„Diese Art von hochauflösender Mikroskopie und ein exzellentes Team aus Zellbiologen, Informatikern und Physiologen haben uns geholfen, die molekulare Struktur der Tight junctions aufzuklären“, betont Dr. Martin Lehmann, Leiter der Gruppe Cellular Imaging. „Zum ersten Mal können wir nun den Mechanismus für alle Hauptepithelbarriere-Eigenschaften beschreiben.“

Mit STED einzelne Netzwerk-Maschen aufgelöst

Normalerweise ist die Auflösung von Fluoreszenzmikroskopen auf ungefähr 250 Nanometer begrenzt. Im STED sind 50 Nanometer oder weniger möglich. Das verschaffte den Forschenden buchstäblich mehr Durchblick. „Mit der gewöhnlichen Fluoreszenzmikroskopie hätten wir nie die dichte Organisation der Tight junction durchdrungen, aber mit STED konnten wir die einzelnen Maschen des Netzwerks auflösen. Und so können wir nun die genaue Position der Proteine bestimmen, sehen ob sich die Claudine mischen oder voneinander getrennt sind und wie sie sich entmischen“, sagt Hannes Gonschior, Erstautor der Studie, der am FMP zum Thema promoviert. „Diese Nano-Organisation war zuvor nicht bekannt.“

Zunächst erfolgten die Untersuchungen auf zellulärem Niveau, dann im Gewebe aus Darm und Nieren von Mäusen. Eindrucksvolle Bilder geben die fluoreszent markierten Proteine in verschiedenen Farben wieder, zeigen, wo sich welche Proteine befinden und wie sie sich zu einem bunten Reißverschluss aneinanderketten.

Drei Erkenntnisse aus der jetzt in Nature Communications publizierte Arbeit sind besonders hervorzuheben:

Erstens: Claudine dichten Zellzwischenräume für Ionen und kleine Moleküle ab – ähnlich einem Reißverschluss. Diese Abdichtungen sind je nach Gewebe und Zusammensetzung der Tight junction selektiv ionendurchlässig.

Zweitens: Jedes zweite Claudin kann gar nicht in Stränge polymerisieren. Es ist zur Bildung einer Tight junction auf andere Teammitglieder angewiesen, die es „funktionalisieren.“

Drittens: Claudine agieren in fünf Organisationsprinzipien miteinander. Das heißt, es gibt fünf verschiedene Wege, wie sie sich mischen können, aber auch wieder entmischen.

Modell für die Wirkstoffsuche geschaffen

Dass die FMP-Forschenden erstmals die Nano-Organisation der Tight junctions bestimmen konnten, ist ein großer Erfolg für die Grundlagenforschung. Aber auch die Medizin kann profitieren. Denn Mutationen an Claudinen spielen bei verschiedenen Erbkrankheiten eine Rolle. Am offensichtlichsten ist dies beim sogenannten HELIX-Syndrom der Fall – eine seltene Erkrankung, bei denen die Betroffenen zu wenig Schweiß produzieren. Schuld ist eine Mutation im Claudin 10b, das zu Defekten an den Schweiß, Tränen und Mundspeicheldrüsen, sowie gestörter Kalzium- & Magnesiumregulation in der Niere führt. Auch mit dieser Krankheitsmutante hatte das Forscherteam experimentiert.

„Unsere Forschung ist vom klinischen Bezug noch sehr weit weg“, ordnet Biophysiker Martin Lehmann ein. „Doch wir verstehen jetzt wie diese Netzwerke aufgebaut sind. Das ist der erste Schritt, damit man später einmal nach kleinen Molekülen suchen kann, die diese Barrieren öffnen oder schließen.“

Zellbiologe Hannes Gonschior ergänzt: „Wir haben ein vereinfachtes Modell für die Wirkstoffsuche und die Erforschung des parazelluläre Ionenflusses ganz generell gefunden. Es ist sehr gut möglich, dass es dabei helfen wird, bislang unerklärliche klinische Phänotypen und Symptomatiken einmal verstehen zu können – mit einem Defekt in eben dieser parazellulären Barriere.“

Publikation

Gonschior H, Schmied C, van der Veen RM, Eichhorst J, Himmerkus N, Piontek J, Günzel D, Bleich M, Furuse M, Haucke V, Lehmann M. Nanoscale segregation of channel and barrier claudins enables paracellular in flux Nat Commun 13, 4985 (2022) doi.org/10.1038/s41467-022-32533-4