

Molekularbiologische Analyse von Zelladhäsionsmechanismen bei der neuronalen Regeneration und Verhaltensplastizität

Molecular biological analysis of cell adhesion mechanisms during neuronal regeneration and behavioural plasticity

R. SCHMIDT, Arbeitskreis Neurochemie, Zoologisches Institut der J.W.Goethe-Universität, Siesmayerstraße 70, W-6000 Frankfurt am Main

An der Ontogenese neuronaler Verschaltungen im Zentralnervensystem (ZNS) sind Zelladhäsionsmoleküle als Bestandteile der Zellmembranen und der extrazellulären Matrix beteiligt: Sie dirigieren die Migration neurektodermaler Zellen und dienen auswachsenden Neuriten zur Orientierung. Niedere Vertebraten behalten auch als adulte Tiere die Fähigkeit zur Regeneration zentraler Bahnen, eine Fähigkeit, die dem ZNS höherer Vertebraten nach der embryonalen Lebensphase verlorengeht. Bei niederen Vertebraten sind auch die Cerebrospinal- und Interzellulärflüssigkeit wesentlich eiweißreicher als bei Vögeln und Säugern. Wir haben eines dieser sezernierten Zelladhäsionsmoleküle untersucht, das auf Grund seiner frühen immunhistologischen Lokalisierung in der ependymalen Zone des Goldfischgehirns als Ependymin bezeichnet wird.

Das Ependymin wurde aus dem Gehirn von Goldfischen (*Carassius auratus*) isoliert, gereinigt und zur Produktion von Antisera eingesetzt. Über cDNA Clon-Banken wurde auch die Sequenz seiner mRNA ermittelt. Mit molekularen Oligonucleotid-Sonden gegen die mRNA und mit spezifischen Antisera konnten nun der Syntheseort dieses ZNS-spezifischen Proteins durch *in situ* Hybridisierung und seine Verteilung mit Immunfluoreszenz und Radioimmunoassays analysiert werden.

Das Ependymin wird von Retikulozyten in der Leptomeninge des *Cypriniden* Gehirns synthetisiert, glycosyliert und in den Extrazellulärraum sezerniert. Das Protein findet sich aber nicht nur im rauen endoplasmatischen Retikulum der Retikulozyten (Immunogoldmarkierung) und in der extrazellulären Matrix, sondern auch in spezifischen Zellpopulationen wie der Radiärfaserglia und den Typ I und Typ XIV Neuronen im Tectum opticum. Da die *in situ* Hybridisierungen keinen Hinweis auf eine Synthese des Ependymins in diesen Zellen ergeben, muß es vom Extrazellulärraum aufgenommen werden.

Interessanterweise ist die Ependyminsynthese während der retinotectalen Regeneration im Goldfischgehirn erhöht, und intracerebral applizierte anti-Ependymin Antikörper blockieren in dieser Phase die Verschärfung rezeptiver Felder (Schmidt JT, Shashoua VE 1988: Brain Res 446, 269). Auch nach einer aktiven Meidekkonditionierung wird die Ependymin mRNA Expression innerhalb weniger Minuten induziert und erreicht nach 2 Stunden ein Maximum (Schmidt R et al 1992: Progr Brain Res 91, 7). Die Ependyminkonzentration im Cytoplasma zeigt erst nach 5 Stunden ein Maximum, und die maximale Sekretion in die Extrazellulärflüssigkeit wird 9 Stunden nach der Verhaltensakquisition erreicht. Wird die Umverteilung des Ependymins nach Lernversuchen durch intracraniale Injektion der Antisera verhindert, so unterbleibt auch die Bildung des Langzeitgedächtnisses. Unsere Resultate weisen auf eine bisher wenig beachtete Funktion meningealer Zellen für die Organisation und die Adaptationsfähigkeit des ZNSs hin.

Bei "gestreßten" Fischen, die einer stochastischen Folge von konditionierenden und unkonditionierten Reizen ausgesetzt wurden, zeigte sich eine kurzfristige Ependymininduktion, auf die eine länger anhaltende Depression der mRNA folgte. Anscheinend gewichten Regulatoren, wie die Konzentration von Stresshormonen, die vorangegangene Akquisitionsphase nach ihrer biologischen Wertigkeit und bestimmen, wann und wieviel Ependymin synthetisiert und sezerniert wird.

Die Konformation der Ependyminmoleküle wird durch Bindung von Calcium- und Zinkkationen beeinflusst, deren Konzentrationen sich in extra- und intrazellulären Kompartimenten des ZNSs aktivitätsabhängig ändern. Bei der neuronalen Regeneration und klassischen Konditionierung können daher die Konformation und Zelladhäsionseigenschaften der sezernierten Ependyminmoleküle in der Nachbarschaft von aktivierten konvergenten Neuronen reguliert werden. Wir folgern, daß bei der neuronalen Regeneration und bei der Verhaltensplastizität im ZNS Zelladhäsionsmechanismen eingesetzt werden, die jenen der epigenetischen Differenzierung verwandt sind.

Mit finanzieller Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Schm 478/4-4)