



Sandra Göbbels (Autor)

Zelltyp-spezifische Expression der Rekombinase Cre im Nervensystem der Maus

Sandra Göbbels

Zelltyp-spezifische Expression der
Rekombinase Cre im Nervensystem der Maus



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3610>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

I Einleitung

1. Das zentrale Nervensystem

Das Nervensystem der Säugetiere fungiert als Koordinationssystem, das die Reaktion auf Reize steuert, Informationen verarbeitet und Signalmuster zur Steuerung komplexer Verhaltensweisen erzeugt. Es gliedert sich in das zentrale Nervensystem (ZNS), bestehend aus Gehirn und Rückenmark und das periphere Nervensystem (PNS), das Ganglien (Nervenknoten) und periphere Nerven umfaßt und seinerseits in das somatische und das vegetative Nervensystem subgruppiert werden kann. Anatomisch wird das ZNS im adulten Tier in sechs Bereiche gegliedert: Telencephalon (Großhirn), Diencephalon (Zwischenhirn), Mesencephalon (Mittelhirn), Pons und Cerebellum (Brücke und Kleinhirn), Medulla oblongata (verlängertes Mark) und Rückenmark. Es ist im wesentlichen aus Nervenzellen (Neuronen) und den beiden makroglialen Zelltypen Astrozyten und Oligodendrozyten aufgebaut.

Die Einheiten der Informationsaufnahme, -verarbeitung und -weiterleitung sind die Neuronen. Das Gehirn des Menschen enthält etwa 10^{12} Neuronen, von denen jedes über Synapsen durchschnittlich 1000 Kontakte mit anderen Neuronen eingeht (Brose, 1999). Im Nervensystem der Vertebraten herrschen multipolare Neuronen vor, zu denen z.B. spinale Motoneuronen, Pyramidenzellen des Hippocampus und des Cortex sowie Purkinjezellen des Kleinhirns gehören. Trotz der großen Vielfalt von Neuronen läßt sich folgender Grundbauplan erkennen: Vom Zellkörper (Soma, Perikaryon) entspringen feine Verzweigungen, die Dendriten, über die im wesentlichen die Signalaufnahme erfolgt. Ein langer Zellfortsatz, das Axon, dient der elektrischen Erregungsweiterleitung zur terminalen Verzweigungsregion der Nervenzelle, wo die elektrische Erregung an Synapsen auf andere Zellen übertragen wird.

Die im ZNS dominierenden Gliazellen sind die durch ihre Sternform und die breiten Endfüßchen ihrer Fortsätze gekennzeichneten Astrozyten. Sie stellen die Hauptquelle für Nährstoffe und Wachstumsfaktoren im Gehirn und sind an der Aufrechterhaltung der extrazellulären Ionen-Homeostasis beteiligt. Außerdem besitzen sie eine Funktion bei der Ausbildung der Bluthirnschranke sowie als bidirektionale Kommunikationspartner für benachbarte Neuronen (Kirchhoff, 2001).

Oligodendrozyten sind die myelinisierenden Zellen des ZNS. Mit ihrer spezialisierten Zellmembran umwickeln sie lammellenartig Segmente benachbarter Axone (Raine und Traugott, 1984), isolieren diese und beschränken dadurch die Entstehung von Aktionspotentialen auf nicht myelinisierte Abschnitte der Axone, die Nodien (Ranvier'sche Schnürringe). Dadurch wird die schnelle saltatorische Weiterleitung von

Nervenimpulsen in Vertebraten erreicht. Die elektrisch isolierende Wirkung der Myelinmembran beruht auf ihrem sehr hohen Anteil an Lipiden (70% des Trockengewichts) (Lemke 1992). Die Anzahl der dominierenden Myelinproteine ist gering. Mit einem Anteil von etwa 50% sind das Proteolipid Protein (PLP, 30kDa) und seine alternativ gespleißte Isoform DM20 (26kDa) die abundantesten Proteine im kompakten Myelin des ZNS (Lees und Brostoff, 1984). Weitere 30-40% des Proteinanteils im kompakten Myelin stellt das basische Myelinprotein (MBP), das in verschiedenen Isoformen vorliegen kann (14-21.5 kDa in Nagern), deren Expression während der Entwicklung durch alternatives Spleißen reguliert wird (Barbarese et al., 1978; de Ferra et al., 1985; Mathisen et al., 1993). 2'-3'-cyclische Nucleotid 3'-Phosphodiesterase (CNP), ein basisches, peripheres Membranprotein des unkompaten Myelins (Trapp et al., 1988; Braun et al., 1988) liegt in zwei Isoformen vor (46 und 48 kDa) und bildet etwa 4% des Gesamtmyelinproteins. Weitere gut untersuchte Bestandteile des unkompaten Myelins sind das Myelin-assoziierte Glykoprotein MAG in zwei Isoformen (64 und 69 kDa) (Lai et al., 1987) und das Myelin/Oligodendrozyten Glycoprotein (MOG, 25kDa) (Gardinier et al., 1992).

2. Die Entwicklung des ZNS

Die Bildung des Nervensystems der Vertebraten läßt sich in sieben grundlegende Entwicklungsprozesse untergliedern (Jessell und Sanes, 2000).

(1) Die Induktion der Neuralplatte

Alle Zellen des ZNS der Vertebraten entstehen aus der Neuralplatte, die während der Gastrulation im dorsalen Ektoderm des Embryos induziert wird. An diesem Entwicklungsschritt ist Chordin maßgeblich beteiligt. Dieses wird im unterliegenden mesodermalen Notochord synthetisiert und hemmt BMP-2 und/oder BMP-4 ("bone morphogenic protein" 2/4) (Sasai et al., 1994; Piccolo et al., 1996), Repressoren von Paired-box- und Homeobox-Genen, wie z.B. Hox-b9 (Sharpe et al., 1988) oder Sax-1 (Schubert et al., 1995), die für die Determination des Neuroektoderms notwendig sind (Tanabe und Jessell, 1996). Deren reduzierte Inhibition führt zu einem als „neurale Induktion“ bezeichneten Entwicklungsschritt (Jessell und Melton, 1992) und der Formierung der Neuralplatte. Dieser basale Mechanismus wird unterstützt durch dorsalisierende, neuralisierende und antineuralisierende Eigenschaften sekretierter Faktoren wie Activin (Gurdon et al., 1994), Noggin (Ferreiro et al., 1994; Lamb et al., 1993), Follistatin (Hemmati-Brivanlou et al., 1994) und FGF (fibroblast growth factor) (Lamb und Harland, 1995), die im Bereich des Notochords gebildet werden.

(2) Die Regionalisierung des Neuralrohrs

Die Einfaltung der Neuralplatte führt zur Bildung des Neuralrohrs (Neurulation). Neuralleistenzellen, aus denen sensorische Neuronen des PNS sowie das autonome

Nervensystem hervorgehen, schnüren sich von der dorsalen Hälfte des Neuralrohrs ab und wandern in die Peripherie. Das Neuralrohr regionalisiert sich entlang der anterior-posterioren und der dorso-ventralen Achse. Entlang der anterior-posterioren Achse markiert die Expression von Transkriptionsfaktoren Domänen, die sich zum Vorderhirn (Rubenstein et al., 1998), Mittelhirn und Kleinhirn (Joyner, 1996), Hinterhirn (Guthrie 1996) und Rückenmark (Lee et al., 1998) entwickeln. Die Dorsalisierung von Zellen geschieht durch lokal wirkende Wachstumsfaktoren, die ein dorsales Zellschicksal induzieren; das vom Notochord und der Bodenplatte sekretierte Sonic hedgehog (Shh) induziert ein ventrales Zellschicksal (Roelink et al., 1994).

(3) Die Bildung von Neuronen und Gliazellen aus multipotenten Vorläuferzellen
Mitotisch aktive Vorläuferzellen bilden ein Neuroepithelium, das den Hohlraum des Neuralrohrs auskleidet. In der Ventrikularzone des ventralen Rückenmarks werden verschiedene Proteine mit Homöodomänen, z.B. Nkx6.1, Dbx1, Pax6 und Irx3, in Reaktion auf das ventral sekretierte Shh-Signal reprimiert oder aktiviert (Briscoe et al. 2000, 2001; Briscoe und Ericson, 2001). Ihre kombinierten Expressionsmuster definieren fünf Progenitorzell-Domänen (Briscoe et al., 2000), und durch die Regulation nachgeschalteter Gene wird die Bildung spezifischer neuronaler Subtypen, wie Motoneuronen und Interneuronen ausgelöst (Ericson et al., 1997; Marquardt und Paff, 2001). Auch die Entstehung von Oligodendrozyten in dieser Zone ist vom Shh-Signal abhängig (Lu et al., 2000), während Signale aus dem dorsalen Rückenmark die Entwicklung von Oligodendrozyten hemmen (Wada et al., 2000).

(4) Apoptose

Etwa die Hälfte der während der Entwicklung des Nervensystems gebildeten Zellen wird durch Apoptose (programmierter Zelltod) wieder eliminiert (Oppenheim, 1981; Burek und Oppenheim, 1996). Dieser phylogenetisch konservierte Mechanismus ist charakterisiert durch morphologische Veränderungen in den sterbenden Zellen (Nijhawan et al., 2000; Ishimaru et al., 1999; Dikranian et al., 2001). Dazu gehören die Kondensierung des Chromatins, die Fragmentierung der DNA und der Zusammenbruch der Kernhülle. Die Rolle der Apoptose während der Entwicklung liegt vermutlich in der Regulierung der endgültigen Anzahl von Neuronen und Gliazellen, der Musterbildung und der Optimierung synaptischer Kontakte (Burek und Oppenheim, 1996).

(5) Die Migration der Neuronen

Zwei grundsätzliche Eigenschaften charakterisieren den Prozeß der neuronalen Migration im cerebralen Kortex besonders gut. Zum einen wandern 80-90% der neuronalen Vorläuferzellen entlang der Radialgliazellen aus den Ventrikularzonen an ihren endgültigen Lokalisationsort aus (Hatten, 1999). Radialglia überspannt die gesamte Dicke des Cortex von den lateralen Ventrikeln bis zur Pia. Zum anderen besteht eine systematische Beziehung zwischen dem Geburtsdatum eines Neurons

(dem Zeitpunkt, an dem es postmitotisch wird) und der lamminären Positionierung. Früh geborene Neuronen bilden die inneren Schichten des Cortex, die später geborenen wandern durch die bereits vorhandenen hindurch und bauen die äußeren Schichten auf (Berry und Rogers, 1965; Rakic, 1974). Das Studium neurologischer Mausmutanten mit Fehlbildungen des Gehirns (Sidman 1983; Hatten und Heintz 1995) hat zur Entdeckung von Genloci geführt, deren Genprodukte an der neuronalen Migration im Gehirn beteiligt sind. Beispielsweise zeigen Mäuse mit mutantem *reeler*-Gen (D'Arcangelo et al., 1995) Fehlbildungen in der lamminären Struktur des cerebralen und cerebellären Cortex (Caviness und Sidman, 1973; Caviness und Rakic, 1978).

(6) Die Zielfindung der Axone

Zur Ausbildung eines funktionalen neuronalen Netzwerks müssen Axone auswachsen, um Kontakte mit ihren Zielzellen herstellen zu können. Vor allem das distale Ende des Axons, der Wachstumskegel, reagiert dabei auf verschiedene "Wegfindungs"-Komponenten und formt transiente Kontakte mit umliegenden Zellen und der extrazellulären Matrix (Kater und Rehder, 1995; Gordon-Weeks, 2000). An der axonalen Navigation ist ein breites Spektrum diffusibler und membrangebundener, wachstumsfördernder oder -hemmender Komponenten beteiligt, die entweder lokal oder über längere Distanzen ihre Wirkung entfalten. Zu dieser Gruppe gehören Neurotrophine und FGF (fibroblast growth factor) (Baird, 1994; Ip und Yancopoulos, 1996; Skaper und Walsh, 1998), Netrine (Kennedy, 2000) und Mitglieder der Collapsin/Semaphorin Familie (Müller et al., 1996), die Eph-Familie der Rezeptor-Tyrosin-Kinasen und deren Liganden (Wilkinson, 2000) sowie Moleküle der extrazellulären Matrix wie Laminin (Reichardt und Tomaselli, 1991) und Zell-Adhäsionsmoleküle (CAMs) (Skaper et al., 2001).

(7) Die Formierung von Synapsen

Zu Beginn der Synapsenbildung kommt es zu einem initialen Kontakt des axonalen Wachstumskegels mit der Zielzelle. Es wurden drei verschiedene Adhäsionssysteme identifiziert, die hierbei eine Funktion ausüben. Dabei handelt es sich um das Cadherin/Catenin-, das CNR- (cadherin like neuronal receptors) und das β -Neurexin/Neuroigin-System (Brose, 1999). Das letztgenannte System dient wahrscheinlich auch der Rekrutierung prä- und postsynaptischer Proteine. An der Postsynapse binden Neuroigine dabei PSD 95 und weitere homologe PDZ-Domänen-Proteine, die ihrerseits an der Rekrutierung von Ionenkanälen, Neurotransmitter-Rezeptoren und weiterer Signaltransduktions-Proteine beteiligt sind (Brose, 1999). Dynamische Veränderungen in Synapsen, die in diesen Prozessen geformt werden, sind möglicherweise die Basis von Gedächtnis- und Lernprozessen (Kandel, 1996).