

AUS DEM INSTITUT FÜR PATHOLOGIE

LEHRSTUHL FÜR

ALLGEMEINE PATHOLOGIE UND NEUROPATHOLOGIE

PROF. DR. DR. HABIL. WOLFGANG SCHMAHL

DER TIERÄRZTLICHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

URSPRUNG, ENTWICKLUNG UND

DIFFERENZIERUNG VON

OLIGODENDROZYTEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Katharina Huber

aus

Obergünzburg

München 2005

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Ammer

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

In Liebe
meinem Sohn
gewidmet

Gliederung

I. Einleitung

II. Oligodendrozyten

1. Ursprung und Entwicklung

1.1. Embryonalentwicklung des ZNS

1.2. Allgemeines

1.3. Topographische Segmentierung des Neuralrohres, zeitlicher Ablauf der Neuro- und Gliogenese und beteiligte Faktoren

1.3.1. Dorsoventrale Segmentierung des Neuralrohres und Einflussfaktoren

1.3.2. Zeitlicher Ablauf der Neuro- und Gliogenese und Einflussfaktoren

1.3.3. Einflüsse von Chorda dorsalis und Bodenplatte auf die Oligodendrogliogenese

1.3.4. Einfluss von Sonic hedgehog auf die Oligodendrogliogenese

1.4. Ursprungsorte der Oligodendroglia im Rückenmark

1.5. Ursprungsorte der Oligodendroglia im Gehirn

2. Differenzierung und Proliferation

2.1. Stadien der Differenzierung

2.1.1. Vorläuferstadien

2.1.2. Differenzierte Oligodendrozyten

2.1.3. Die reifen, myelin-produzierenden Oligodendrozyten

2.2. Marker der Differenzierung

2.2.1. Marker der Vorläuferzellen („Precursorzellen“) und der unreifen Oligodendrozyten

2.2.2. Marker der reifen Oligodendrozyten / Myelin-Marker

2.2.2.1. Myelinlipide

2.2.2.2. Oligodendrozyten-/Myelinproteine

2.3. Einflussfaktoren auf Differenzierung und Proliferation

2.3.1. Wachstumsfaktoren

2.3.2. Hormone

2.3.3. Neurotransmitter

2.3.4. Sonstige Einflussfaktoren

3. Migration

3.1. Migrationswege im Gehirn

3.2. Migrationswege im Rückenmark

3.3. Einflussfaktoren

III. Glossar

IV. Zusammenfassung / Summary

V. Literaturverzeichnis

I. Einleitung

Die Funktionen des Gehirns beruhen auf der Fähigkeit von erregbaren Zellen elektrische Impulse auszulösen und weiterzuleiten. Vor diesem Hintergrund mag es überraschend erscheinen, dass die elektrisch erregbaren Zellen, die Neuronen, zahlenmäßig nicht an erster Stelle unter den verschiedenen Zellarten des Gehirns stehen, sondern dass Gliazellen in ihrer Funktion als Hüll- und Stützzellen diese Position im Zentralnervensystem (ZNS) einnehmen. Als Erster beschrieb der deutsche Pathologe Rudolf Virchow (1821 – 1902) im Jahre 1846 Zellen im ZNS, die keine Merkmale von Neuronen aufwiesen [248]. Er nahm an, dass es sich dabei um das Bindegewebe des Gehirns handle und bezeichnete es als „Nerven kitt“. Virchow schrieb dem Gewebe zwei Aufgaben zu: eine Stützfunktion für die Nervenzellen sowie Beteiligung an der Gewebsreparatur. Lange Zeit wurde nicht erkannt, dass es sich bei den Zellen, die den „Nerven kitt“ bildeten um unterschiedliche Zelltypen handelte. Erst die Entwicklung von Metall-Imprägnierungstechniken ermöglichte die weitere Differenzierung.

Robertson [212] entdeckte mit Hilfe einer Platin-Imprägnierungsmethode kleine Zellen mit Fortsätzen, die sowohl in der weißen als auch in der grauen Gehirns substanz zu finden waren. Er nannte diese Zellen „Mesoglia“, da er von einer mesodermalen Abstammung ausging, und hat aus heutiger Sicht damit erstmalig die Oligodendroglia beschrieben.

Ramon y Cajal identifizierte 1913 mittels Gold-Imprägnierung die Astrozyten [43] sowie ein sogenanntes drittes Element (zusätzlich zu Neuronen und Neuroglia), das mit dieser Färbung nicht darzustellen war.

Dieses dritte Element wurde durch Rio Hortega weiter untersucht. Er unterschied 1921 durch Anwendung einer Silbercarbonat-Imprägnierung zwei Zellarten, die er als „Mikroglia“ und „Oligodendroglia“ – „Zellen mit wenigen Fortsätzen“ – bezeichnete. Die letzteren differenzierte er noch weiter und zwar anhand ihrer Lage zu den Nervenzellen als perineuronale und interfaszikuläre

Oligodendrozyten sowie aufgrund von morphologischen Kriterien (Zahl, Länge und Grad der Verästelung der Fortsätze) in vier Untergruppen [209].

Hortega erkannte darüber hinaus, dass es sich bei den Oligodendrozyten um die myelinbildenden Zellen des ZNS handelte. Vor ihm hatten sich bereits andere mit dieser Thematik auseinandergesetzt: Virchow hatte 1858 erstmals Umhüllungen von Nervenfasern beschrieben und den Begriff „Myelin“ eingeführt [249]. Anfang des 20. Jahrhunderts beschrieb Hardesty [105] aufgrund von lichtmikroskopischen Untersuchungen Oligodendrozyten als Zellen mit enger Verbindung zu entstehenden Myelinscheiden und schloss daraus, dass sie Teile des Myelins bildeten. Auch Cajal hatte 1913 einen Zusammenhang zwischen seinem „dritten Element“ und den Nervenscheiden hergestellt, indem er diese Zellen im ZNS als analog zu den Schwann-Zellen im peripheren Nervensystem betrachtete. Im Jahr 1932 war es schließlich Penfield [185], der als Resultat seiner Studien feststellte, dass die Oligodendrozyten für die Bildung und Erhaltung der Myelinscheiden im ZNS verantwortlich sind.

Trotz all der Ergebnisse, die in die gleiche Richtung wiesen, blieb ein Rest Unsicherheit was die Myelinogenese in diesen Gliazellen betraf. Grund hierfür war die Problematik der zunächst fehlenden Darstellbarkeit von zytoplasmatischen Verbindungen zwischen den Fortsätzen der Oligodendrozyten und den Myelinscheiden. Erst die Elektronenmikroskopie ermöglichte es Bunge et al. im Jahr 1961 [39] darzustellen, dass sich Oligodendroglia-Fortsätze übergangslos in die äußerste Schicht der Myelinscheiden fortsetzten. Seitdem haben eine Vielzahl von Studien die Rolle der Oligodendrozyten bei der Myelinproduktion und –erhaltung untersucht und bestätigt. In den letzten Jahren wurde dabei jedoch zusehends klarer, dass diese Gliazellen darüber hinaus noch weitere Funktionen im Gehirn übernehmen; dass sie möglicherweise in einer Art von Netzwerk Kommunikationsaufgaben erfüllen, die das neuronale Netzwerk ergänzen [24]. Ebenso beschäftigt die Klärung der Herkunft der Oligodendrozyten nach wie vor die Neurobiologie.

Die vorliegende Literaturarbeit entstand von dem Hintergrund aktueller Forschungsarbeiten zur Dysmyelogenese bei Braunviehkälbern, einer Erbkrankheit mit fehlerhafter bzw. mangelnder Oligodendrozytenreifung. Die Folgen sind gravierende Motilitätsstörungen dieser Tiere, Festliegen und sekundäre Infektionskrankheiten mit tödlichem Ausgang.

Die Oligodendrozyten sind innerhalb der vergangenen fünf bis sechs Jahre zu den interessantesten Zellen des Zentralnervensystems aufgestiegen; nicht nur in der Tiermedizin, sondern auch in der Humanmedizin. Dabei fokussiert sich das wissenschaftliche Interesse auf zwei Gebiete: erstens die Einsatzmöglichkeiten der Oligodendrozyten bei Therapieversuchen der Multiplen Sklerose und zweitens die Verwendbarkeit dieser (teilungs- und wanderungsfähigen) Zellen als Transportvehikel für Gentherapien. Beide Intentionen sind über Anfangserfolge noch nicht hinaus gekommen, jedoch ist gleichzeitig die wissenschaftliche Literatur geradezu numerisch „explodiert“. Daher war es für uns eine Notwendigkeit, eine aktuelle Zusammenstellung aller Hypothesen, Befunde und Perspektiven zum Thema „Oligodendrozyten“ zu erhalten.

Diese Arbeit soll einen Überblick über den derzeitigen Stand der Wissenschaft im Hinblick auf Ursprung, Entwicklung und Differenzierung der Oligodendroglia geben. Als Basis dient die aktuelle Literatur.

II. Oligodendrozyten

1. Ursprung und Entwicklung

1.1. Embryonalentwicklung des ZNS

Das ZNS der Wirbeltiere entwickelt sich aus dem Ektoderm der Embryonalanlage. Gegen Ende der zweiten Entwicklungswoche bildet sich dabei bei den Haussäugetieren in diesem Keimblatt durch Einfluss des darunter liegenden Mesoderms in der dorsalen Mittellinie die Neuralplatte (Lamina neuralis). Deren Seitenränder wölben sich als Neuralfalten (Plicae neurales) empor und begrenzen so zunächst die Neuralrinne (Sulcus neuralis), bevor sie sich schließlich zum Neuralrohr (Tubus neuralis) mit eingeschlossenem Zentralkanal vereinigen. Der Verschluss der Neuralrinne beginnt in der Mitte und schreitet nach kaudal und rostral fort. Im rostralen Bereich ist sehr früh bereits eine stärkere Entwicklung und Hohlraumbildung zu erkennen, was die Trennung in Hirnanlage, Hirnröhre und das engere Medullarrohr ermöglicht. Während dieser Vorgänge lösen sich Zellen aus der Übergangszone von Neuralrinne und Epidermisblatt und bilden lateral beidseits die Neuralleisten (Cristae neuralis) aus. Die Zellen des Neuralrohres beginnen zu proliferieren, wandern in manchen Bereichen aus ihrer angestammten Zellschicht aus und bilden die Subventrikularzone. Hier erfolgen weitere Zellteilungen.

Rückenmark: Das Medullarrohr besteht zunächst nur aus einem mehrreihigen Neuroepithel, das den spaltförmigen Zentralkanal begrenzt. Hier treten in der Folge mitotisch aktive Neuroblasten auf, die um das Neuroepithel die sog. Mantelschicht (Stratum palliale) ausbilden. Diese wird später zur grauen Substanz. Die von den Neuroblasten auswachsenden Neuriten ordnen sich zur Randschicht (Stratum marginale), der späteren weißen Substanz, an. Im ventralen und dorsalen Bereich bleibt die Wand des Neuralrohres dünn, hier entstehen Deckplatte (Lamina dorsalis) und Bodenplatte (Lamina ventralis). An den

lateralen Wänden verdickt sich hingegen die Mantelschicht durch ständige Zellteilungen rasch und wird durch eine Längsfurche, den Sulcus limitans, in die dorsale Flügelplatte (Lamina dorsolateralis) und die ventrale Grundplatte (Lamina ventrolateralis) unterteilt. Nach bzw. auch parallel zur Bildung der Neuroblasten im Neuroepithel, entstehen hier auch die ersten Vorläuferzellen der Gliazellen. Das Neuroepithel des Neuralrohres differenziert sich anschließend zum Ependym.

Gehirn: Im Bereich der Hirnanlage entsteht zunächst das dreiblasige Stadium. Der vordere Abschnitt ist das Prosencephalon (Vorderhirn), nach kaudal gefolgt vom Mesencephalon (Mittelhirn) und dem Rhombencephalon (Rautenhirn). Durch weitere Untergliederung entsteht die endgültige Aufteilung der Gehirnanlage im fünfblasigen Stadium (siehe Abbildung 1). Aus dem Prosencephalon entwickeln sich Telencephalon (Endhirn) und Diencephalon (Zwischenhirn). Während das Mesencephalon keine weitere Aufteilung erfährt, untergliedert sich das Rhombencephalon weiter in Met- (Hinter-) und Myelencephalon (Nachhirn). Ebenso wie im Bereich des Medullarrohres kommt es durch Proliferation und Migration der Zellen des Neuralrohres zu erheblichen Veränderungen der ursprünglichen Struktur.

-Myelencephalon: Im Myelencephalon verdicken sich Grundplatte und Bodenplatte durch Proliferationsvorgänge stark. Hier entwickelt sich die Medulla oblongata mit ihren Kerngebieten. Die Deckplatte wird zum Dach des IV. Ventrikels.

-Metencephalon: Aus dem vorderen Abschnitt des Rhombencephalon bilden sich ventral aus den Grundplatten die Brücke (Pons) und dorsal aus den Flügelplatten das Kleinhirn (Cerebellum). Aus der Deckplatte wird vor dem Kleinhirn das Velum medullare rostrale sowie kaudal das Velum medullare caudale.

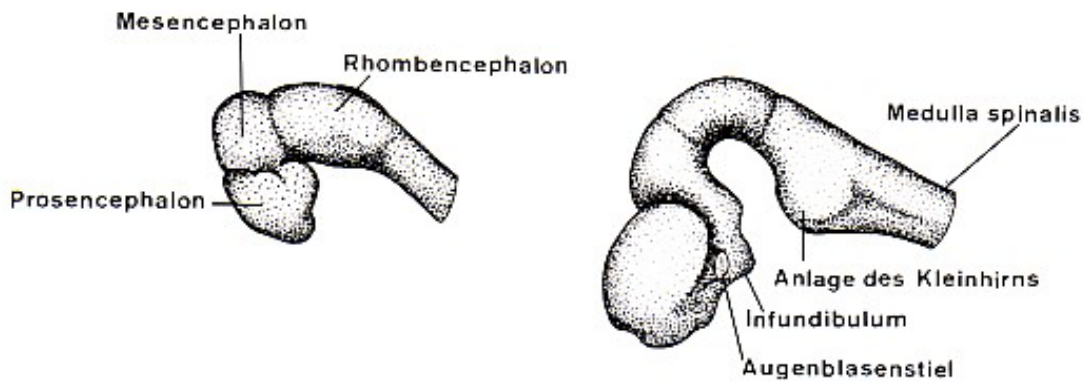
-Mesencephalon: Im Mesencephalon entwickeln sich aus den Grundplatten die Mittelhirnhäube und aus ihren Randbereichen die Hirnschenkel (Crura cerebri). Im Bereich der Flügelplatte entstehen zunächst zwei Erhebungen; in der Folge

bildet sich daraus die Vierhügelplatte. Aus dem Zentralkanal wird der dünne Aquaeductus mesencephali.

-Diencephalon: An der Zwischenhirnanlage existiert keine Bodenplatte und auch eine Untergliederung in Grund- und Flügelplatte wird mangels funktioneller Unterschiede nicht vorgenommen. In diesem Bereich entwickeln sich basal der Hypothalamus, weiter dorsal Thalamus und Metathalamus. Aus dem Mittelteil der Deckplatte geht der Epithalamus mit der Epiphyse hervor. Der ursprünglich spaltartige Hohlraum des Zentralkanals wird zum ringförmigen Kanal mit diversen Ausbuchtungen, dem III. Ventrikel.

-Telencephalon: Die Seitenteile des unpaaren Endhirnbläschens wachsen stark und bilden so die Hemisphärenbläschen, die Grundlage der Großhirnhemisphären, aus. Die darin eingeschlossenen Hohlräume bilden die Seitenventrikel, die über die Foramina interventricularia mit dem III. Ventrikel in Verbindung stehen [221].

Dreiblasenstadium



Fünfblasenstadium

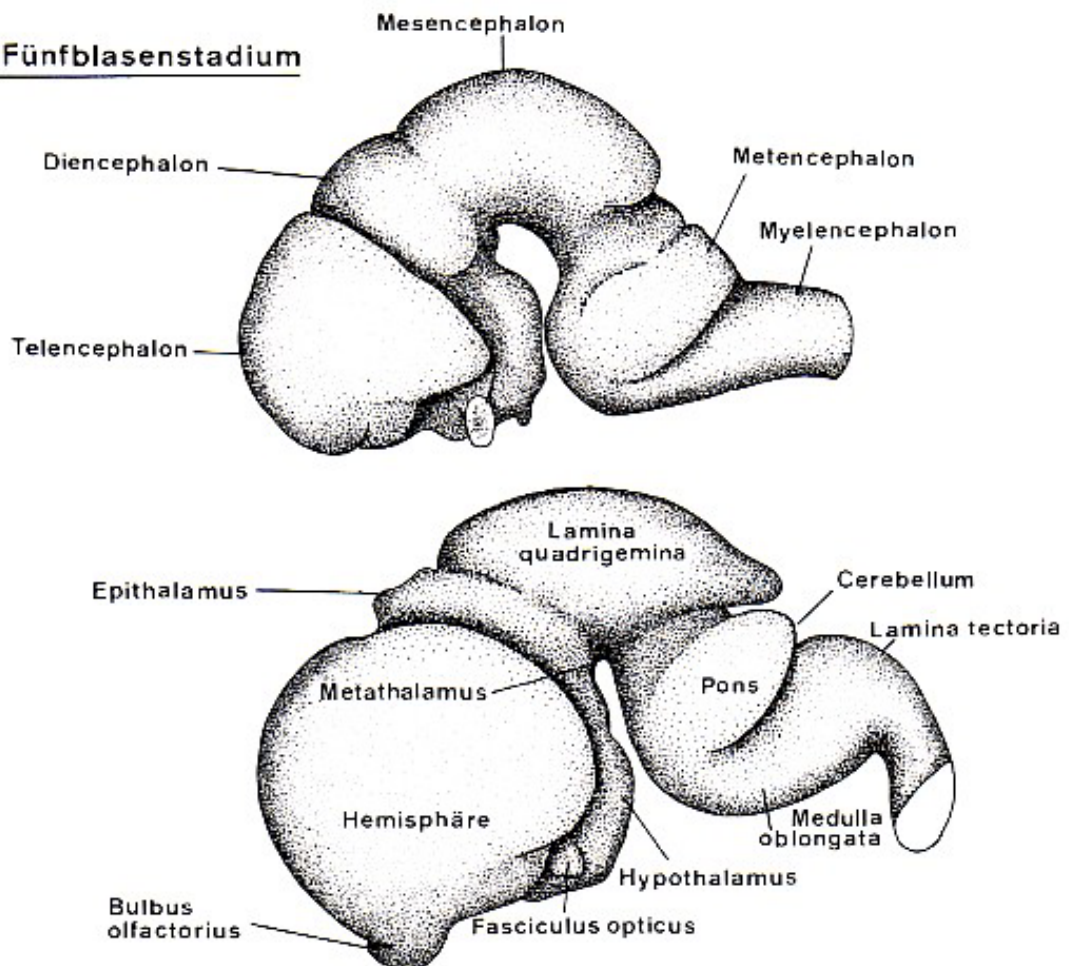


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Gehirnentwicklung (aus Schnorr, Embryologie der Haustiere, 1989 [221])

1.2. Allgemeines

Hosoya et al. [110] sowie Jones et al. [117] führten Untersuchungen zur Gliogenese an der *Drosophila* durch. Bei diesem Insekt entwickeln sich Neuronen und Glia des ZNS aus gemeinsamen Stammzellen, den Neuroblasten. Die Entwicklung der einen bzw. anderen Zellart wird durch ein Gen reguliert, das die Forscher „glial cells missing“ (gcm) nannten. Das von ihm kodierte Protein wird von frühen Gliazellen exprimiert und bewirkt, dass sich die Neuroblasten zu Gliazellen differenzieren, während sein Fehlen eine Entwicklung der Vorläuferzellen hin zu Neuronen bewirkt. Ein vergleichbares Gen konnte bisher in Wirbeltieren nicht nachgewiesen werden.

Auch bei Säugetieren sind die Keimzellen des ZNS pluripotente Stammzellen. Diese entstehen aus den neuroektodermalen Zellen des Neuralrohres. Ein großer Teil dieser Stammzellen entwickelt sich nicht weiter, sondern unterliegt der Apoptose. Die verbleibenden schlagen in Abhängigkeit von den in der Umgebung vorhandenen Einflussfaktoren, aber auch beeinflusst von zellintrinsischen Faktoren, unterschiedliche Wege ein und differenzieren sich zu Neuronen oder zu den unter der Bezeichnung „Makroglia“ zusammengefassten Gliazellen.

Ein wichtiger Einflussfaktor bei diesen Differenzierungsvorgängen ist der Zeitfaktor. Im Gehirn von Säugetieren werden in der ersten Hälfte der Trächtigkeit sämtliche kortikale Neuronen unter dem Einfluss einer Vielzahl von Wachstumsfaktoren angelegt. Die Entwicklung der Radialglia, aus der sich im weiteren Verlauf die Astrozyten entwickeln, findet in etwa zeitgleich statt und unterstützt die Neuronen bei ihrer Wanderung zum Cortex. Die Oligodendrozyten gehören zu den letzten Zellen, die sich im ZNS entwickeln. Ihre Ausbildung und nachfolgend die Myelinisierung setzt erst ein, nachdem der größte Teil der Neuronen gebildet und die Axone die Verbindung zum Zielort hergestellt haben [149].

Die Vorläuferzellen entwickeln sich in den ventrikulären Zonen (VZ) bzw. der Subventrikularzone (SVZ). Im Gehirn von Ratten entsteht zunächst die VZ. Sie

beinhaltet Zellen, die sich während der frühen pränatalen Phase zu Neuronen und Radialglia entwickeln. Dabei beginnt die Neurogenese am Tag 12 der Embryonalentwicklung (E 12), steigert sich bis E 14 und nimmt mit E 17 deutlich ab [183]. Die SVZ, die dorsal der VZ lokalisiert ist, bildet sich bei Ratten um E 14 und wird ab E 19 die vorherrschende Germinalzone. Sie nimmt nach dem Höhepunkt der Oligodendrozytogenese (Tag 14 postnatal = P 14) an Umfang ab, bleibt aber im Bereich der Seitenventrikel als Subependymalzone bestehen und es findet sich dort auch noch bei Adulten eine mitotische Aktivität. Der größte Teil der Zellen in der SVZ sind gliale Vorläuferzellen, aus denen zeitlich versetzt Astrozyten oder Oligodendrozyten entstehen. Aber auch pluri- bzw. bipotente Zellen sind zu finden, die zum einen Astrozyten und Oligodendrozyten, zum anderen Neuronen und Gliazellen hervorbringen können [133;134;141;194]. Die Oligodendrozyten-Precursor-Zellen entstehen in dieser Germinalzone aus den neuroektodermalen Stammzellen und sind zu Mitose und Migration fähig. Die Orte, an denen die ersten Vorläuferzellen auftreten (siehe 1.4 und 1.5.) sowie die Muster ihrer nachfolgenden Ausbreitung unterscheiden sich in den verschiedenen Bereichen des ZNS und können über den Nachweis von zellspezifischen Markermolekülen (siehe 2.2.) verfolgt werden. Der Ablauf dieser Vorgänge wird von einer Vielzahl von lokal wirksamen Einflüssen gesteuert und kontrolliert.

1.3. Topographische Segmentierung des Neuralrohres, zeitlicher Ablauf der Neuro- und Gliogenese und beteiligte Faktoren

1.3.1. Dorsoventrale Segmentierung des Neuralrohres und Einflussfaktoren

Die Entwicklung des Rückenmarkes beginnt mit der Formation des Neuralrohres und der Entstehung von Signalzentren sowohl innerhalb als auch außerhalb dieser Struktur, die nachfolgend die Entstehung der verschiedenen Zellarten des Neuralrohres bedingen. Das Signalprotein Sonic hedgehog (Shh), das zunächst

von der Chorda dorsalis und in der Folge auch von der Bodenplatte exprimiert wird (siehe auch 1.3.4.), sowie Mitglieder der Transforming Growth Factor β -Familie (TGF- β -Familie) und die BMPs (bone morphogenic proteins), die aus der Deckplatte und dem Ektoderm hervorgehen, beeinflussen dabei durch die Ausbildung entgegengesetzt wirkender Botenstoffgradienten entscheidend die dorsoventrale Segmentierung [115]. Die Ausbreitung der BMPs nach ventral bzw. von Shh nach dorsal wird dabei jeweils von antagonistisch wirkenden Signalen eingeschränkt. So dämpft der aus der Chorda dorsalis hervorgehende BMP-Antagonist Noggin den BMP-Einfluss im ventralen Neuralrohr [147]. Die Shh-Ausdehnung wird von den Gli-Proteinen reguliert. Gli 1, das in Mittellinienzellen entsteht, fungiert als Mediator der Shh-Wirkung. Demgegenüber unterdrückt Gli 3, das in der gesamten Neuralplatte exprimiert wird, die Wirkung von Shh [4;139]. Diese extrazellulären Einflüsse bewirken in den neuralen Stammzellen im Zusammenspiel mit intrazellulären Faktoren den Ablauf von verschiedenen Differenzierungsprogrammen, die schließlich zur Ausbildung von diversen Neuronentypen, bzw. Gliazellen führen [120]. Die unterschiedlichen Zellarten entstehen innerhalb des Neuralrohres in spezialisierten neuroepithelialen Domänen, von denen im ventralen Rückenmark, aus dem auch die Oligodendrozyten entstehen (siehe 1.4.), fünf bekannt sind: p0, p1, p2, pMN und p3 (siehe Abbildung 2). Innerhalb dieser topografischen Domänen entwickeln sich zunächst verschiedene Neuronentypen unter dem Einfluss von Entwicklungskontrollgenen (Sim 1, Isl 1, Chx 10, En 1, Evx 1/2) und von Homöo-Domänen-(HD)-Transkriptionsfaktoren. Diese letztgenannten Faktoren, die spezifisch für die jeweiligen Domänen sind, unterliegen in ihrer Expression der Einwirkung der von ventral nach dorsal abnehmenden Konzentration von Shh [36;37]. Sie werden aufgrund ihrer Expressionsmuster und der Art und Weise, wie sie von Shh reguliert werden, in zwei Klassen eingeteilt: Klasse-I- und Klasse-II-Faktoren. Die Ersteren, zu denen die Faktoren Pax 6 und 7, Dbx 1 und 2 sowie Irx 3 zählen, werden von Shh unterdrückt und finden sich daher in einigem

Abstand zur Bodenplatte. Dem gegenüber stehen die Klasse-II-Faktoren Nkx 2.2, Nkx 6.1, Nkx 6.2 und auch das basische Helix-Loop-Helix (bHLH) Protein Olig 2, deren Bildung von Shh induziert wird. Die Faktoren der beiden Klassen regulieren sich in ihrer Expression aber auch gegenseitig. So unterdrückt beispielsweise Pax 6 die Nkx 2.2-Expression und beschränkt diese so auf die V3-Interneuron-Progenitor-Domäne (p3) [77]. Vergleichbare Wechselwirkungen wurden für Nkx 6.1/Dbx 2 an der p2/p1-Grenze, für Nkx 6.2/Dbx 1 am Übergang von p1 zu p0, sowie für Irx 3/Olig 2 zwischen pMN und p2 festgestellt [173;245]. Vallstedt et al. [245] zeigten diese Interaktionen für das Paar Nkx 6.2/Dbx 1 auf, indem sie an Nkx 6.2-Null-Mäusen nachwiesen, dass die Dbx 1-Expression bis in die p1-Domäne reichte und dort die Entstehung von ektopischen V0-Neuronen hervorrief, die sonst nur in p0 vorkommen. Das bHLH-Protein Olig 2, das in jüngeren Studien [140;267] als mitbeteiligt an der Entwicklung von Oligodendrozyten erkannt wurde, wird in der pMN-(Motoneuronen-Progenitor)-Domäne exprimiert, und zwar deutlich vor dem dortigen ersten Auftreten der Oligodendrozyten-Precursoren. Novitch et al. [173] konnten nachweisen, dass zwischen diesem Faktor und Irx 3 eine gegenseitige Repression stattfindet, durch welche die pMN/p2-Grenze festgelegt wird. Darüber hinaus zeigten sie, dass durch Nkx 6.1 die Expression von Olig 2 gefördert wird, während Nkx 2.2 die ventrale Ausdehnung dieses Proteins begrenzt. Zwischen den HD-Transkriptionsfaktoren und bHLH-Proteinen, zu denen neben Olig 2 auch die Neurogenine (Ngn) (siehe auch 1.3.2.) gehören, findet offenbar im Hinblick auf die Neurogenese eine wechselseitige Regulation statt [160;219]. Scardigli et al. [219] zeigten dies für Ngn 2, einen Faktor, der für die Entwicklung von Motoneuronen essentiell ist. Er unterliegt in seiner Expression dem Einfluss von Pax 6. Gleichzeitig ist Ngn 2 jedoch für die korrekte Expression von Pax 6 erforderlich.

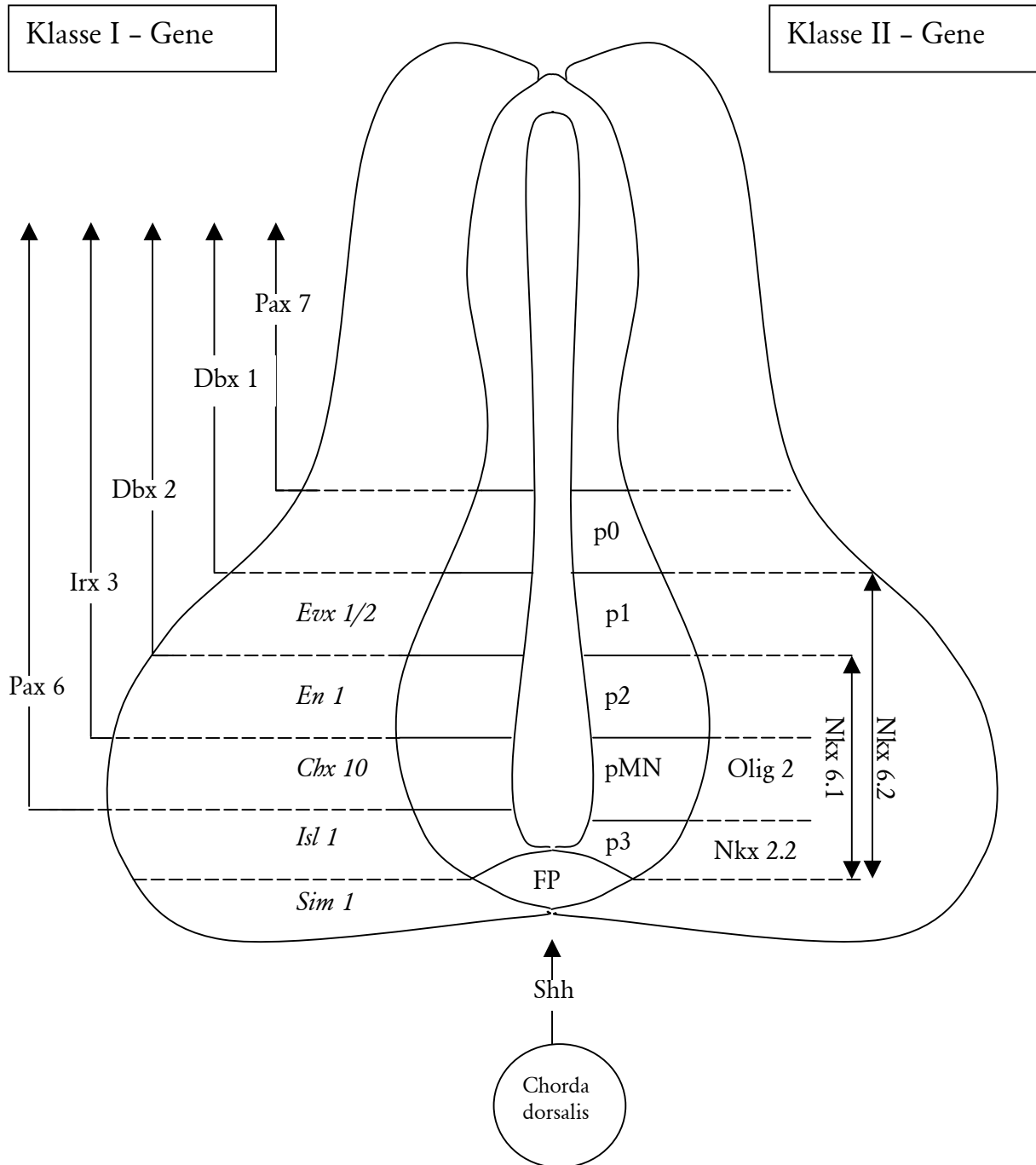


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Neuralrohres mit den topographischen Domänen (p0, p1, p2, pMN, p3), aus denen die verschiedenen Neuronentypen entstehen, den einwirkenden Transkriptions- bzw. Induktionsfaktoren sowie den Entwicklungskontrollgenen (kursiv). Erläuterungen siehe Text.

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Transkriptionsfaktoren erfahren in ihrer Expression eine lokale Regulation mit dem Ende der Neurogenese, welche die Gliogenese ermöglicht (siehe 1.3.2.)

1.3.2. Zeitlicher Ablauf der Neuro- und Gliogenese und Einflussfaktoren

Die Entwicklung von unterschiedlichen Zelltypen während der embryonalen ZNS-Entwicklung ist, wie im vorangehenden Abschnitt beschrieben, abhängig von zellintrinsischen und positionsabhängigen, äußeren Einflüssen [115;146]. Dabei bilden sich die verschiedenen Zellen in nacheinander ablaufenden bzw. sich teilweise überlappenden Zeiträumen. Zuerst entstehen Radialglia und Neuronen, nachfolgend Astrozyten und zuletzt Oligodendrozyten [133]. Werden neurale Stammzellen zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommen und ohne den Einfluss von Wachstumsfaktoren kultiviert, so entwickeln sich diese Zellarten in der gleichen Reihenfolge [199]. Bei der Cokultivierung mit prä- bzw. postnatalen Gehirnschnitten differenzierten sich früh entnommenen Stammzellen im ersten Fall zu Neuronen, im zweiten zu Gliazellen. Aus dem gleichen Experiment mit postnatalen Zellen resultierten hingegen nur Gliazellen, was zeigt, dass die Fähigkeit auf extrazelluläre Einflüsse zu antworten, sich in dieser Zeit verändert bzw. teilweise verloren geht [164].

Die nachfolgend beschriebenen Resultate (siehe Tabelle 1, S. 21) stammen sowohl aus in-vivo-Untersuchungen als auch aus Zellkulturexperimenten an pluripotenten neuralen Stammzellen aus dem Gehirn von Ratten [218]. Die Neurogenese, die am Tag E 12 –13, nach der Etablierung der Radialglia, beginnt, findet an E 14 ihren Höhepunkt [183]. Zu diesem Zeitpunkt wird das Gen Neurogenin (Ngn) in hohem Maße exprimiert [218]. Es begünstigt die Entstehung von Neuronen und blockiert gleichzeitig Pro-Astrozyten-Einflüsse [234]. Ngn bindet an den Transkriptions-Coaktivator CBP (cAMP-response element binding protein)/p300 und beeinflusst zusammen mit diesem die Entwicklung von

neuronalen Stammzellen hin zu Neuronen [218]. Die unter PDGF (platelet derived growth factor) beobachtete Neuronenentwicklung läuft ebenfalls über die Aktivierung dieses Ngn/CBP/p300-Komplexes [116]. Der zweite, zu diesem Zeitpunkt aktive, proneuronale Signalweg wird durch die BMPs (bone morphogenic proteins) vermittelt. Diese Wachstumsfaktoren bewirken durch die Bindung an ihre Rezeptoren die Phosphorylierung der Sma-Mad-homolog (Smad) Transkriptionsfaktoren. Diese binden im Zellkern wiederum an das bereits erwähnte CBP/p300 und begünstigen dadurch die Entstehung von Neuronen [151;159]. Mit dem Tag E 16 nimmt die Neurogenese in vivo stark ab und es setzt die Gliogenese ein, bei der zunächst überwiegend Astrozyten gebildet werden. Auch hierbei sind eine Vielzahl von Wachstums- und Transkriptionsfaktoren beteiligt. Interleukin-6 (IL 6), Leukemia inhibitory factor (LIF) sowie CNTF (ciliary neurotrophic factor) sind drei, die Astrozytogenese begünstigende Wachstumsfaktoren [116;166;204]. Die Wirkung des Letzteren wird über die Aktivierung des JAK/STAT (Janus Kinase/signal transducers and activators of transcription) Signalweges vermittelt [34]. Die Bindung von CNTF führt zur Phosphorylierung von STAT-Transkriptionsfaktoren, die ihrerseits an den CBP/p300-Komplex binden und die Expression von Astrozyten-spezifischen Genen aktivieren [166]. Die STAT-Faktoren können erst nach Abfall des Ngn-Spiegels an diesen Transkriptions-Coaktivator binden, da sich die Bindungsstellen dieser beiden überlappen [234]. Ngn blockiert aber offenbar zusätzlich noch auf andere, bislang nicht näher bekannte Weise die Phosphorylierung der STAT-Faktoren und damit die Astrozyten-Entstehung [234]. Auch die BMPs führen nach Wegfall der Ngn-Wirkung über den oben beschriebenen Weg (BMP → Smad → CBP) und zusätzlich über STAT → CBP zur Ausbildung von Astrozyten [166]. Die BMPs begünstigen zusätzlich noch auf andere Weise die Astrozytogenese zu Lasten der Neurogenese. Sie induzieren die Expression des Hes (Hairy/enhancer of split), eines Repressors für bHLH-Proteine, zu denen

auch Ngn gehört. Hes fungiert darüber hinaus als Effektor für den Notch-Signalweg, der seinerseits die Gliogenese fördert [108;236].

Sonic hedgehog (Shh), ein Signalprotein, das, wie in 1.3.1. beschrieben, die dorsoventrale Organisation des sich entwickelnden Neuralrohres entscheidend beeinflusst, begünstigt die Oligodendrogligenese. Werden neurale Stammzellen aus E 14-Rattenembryonen dem Einfluss von Shh ausgesetzt, so entwickeln sich in den Kulturen Oligodendrozyten zu einem Zeitpunkt, an dem sonst die Neurogenese im Vordergrund steht [2]. Vermittelt wird die Wirkung unter anderem über die Hochregulierung der bHLH-Proteine Olig 1 und 2 (siehe auch 2.2.1.) [140;267].

Die Expression der unter 1.3.1. erwähnten Transkriptionsfaktoren verläuft während der Neurogenese so wie dort beschrieben. In der pMN-Domäne lässt sich im Verlauf der Zeit aber eine Veränderung erkennen. Im ZNS von Küken entstehen hier zwischen E 3 und E 5 Motoneuronen unter dem Einfluss von Nkx 6.1, Pax 6, Olig 2 und Ngn [120]. Ab E 6 wird jedoch die Expression der Neurogenine herunterreguliert und gleichzeitig verschiebt sich die Nkx 2.2/Pax 6-Grenze, die vorher zwischen p3 und pMN verlief, nach dorsal an den pMN/p2-Übergang. Daraus resultiert eine Zone, in der Olig 2 und Nkx 2.2 gleichzeitig auftreten und diese Veränderung ermöglicht nun die Entstehung von Oligodendrozyten-Precursoren aus den neuralen Stammzellen [266] (siehe Abbildung 3). Allerdings sind hier speziesspezifische Unterschiede zu beachten. Bei Nagern entstehen die Oligodendrozyten-Vorläuferzellen auch außerhalb der Nkx 2.2.-Domäne. Die Herunterregulierung der Neurogenine scheint aber bei allen Spezies das ausschlaggebende Ereignis zu sein [120].

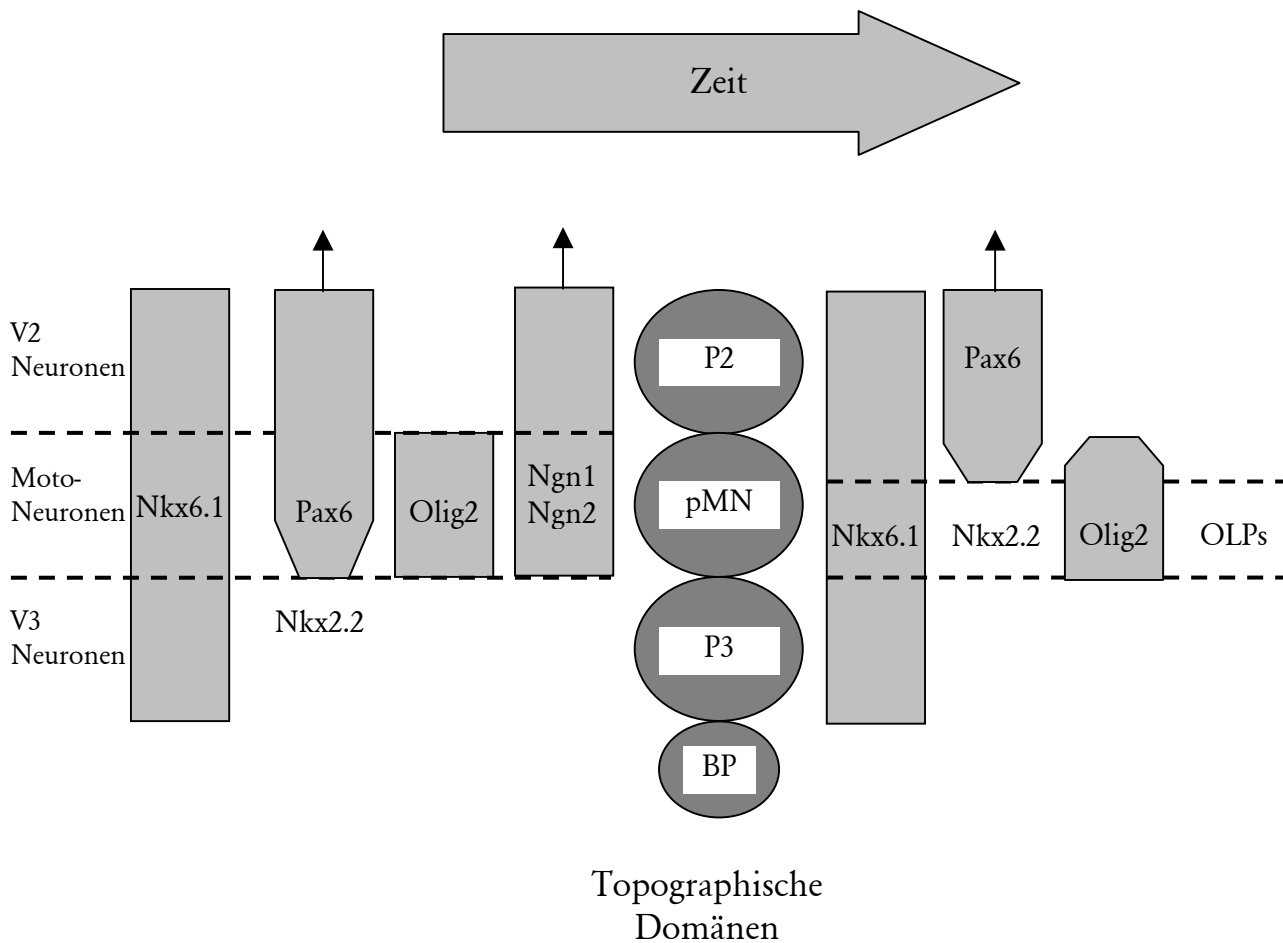


Abbildung 3: Wechsel von der Neurogenese zur Gliogenese im Rückenmark von Küken. Dargestellt ist die Veränderung in der lokalen Expression der regulierenden Faktoren (nach Kessarlis et al., 2001 [120]). Erläuterungen siehe Text.

Abkürzungen: OLPs: Oligodendrozyten-Precursorzellen

BP: Bodenplatte

**Zeitlicher
Ablauf**

Neuro- und Gliogenese

im ZNS der Ratte während embryo-fetaler und postnataler Phase

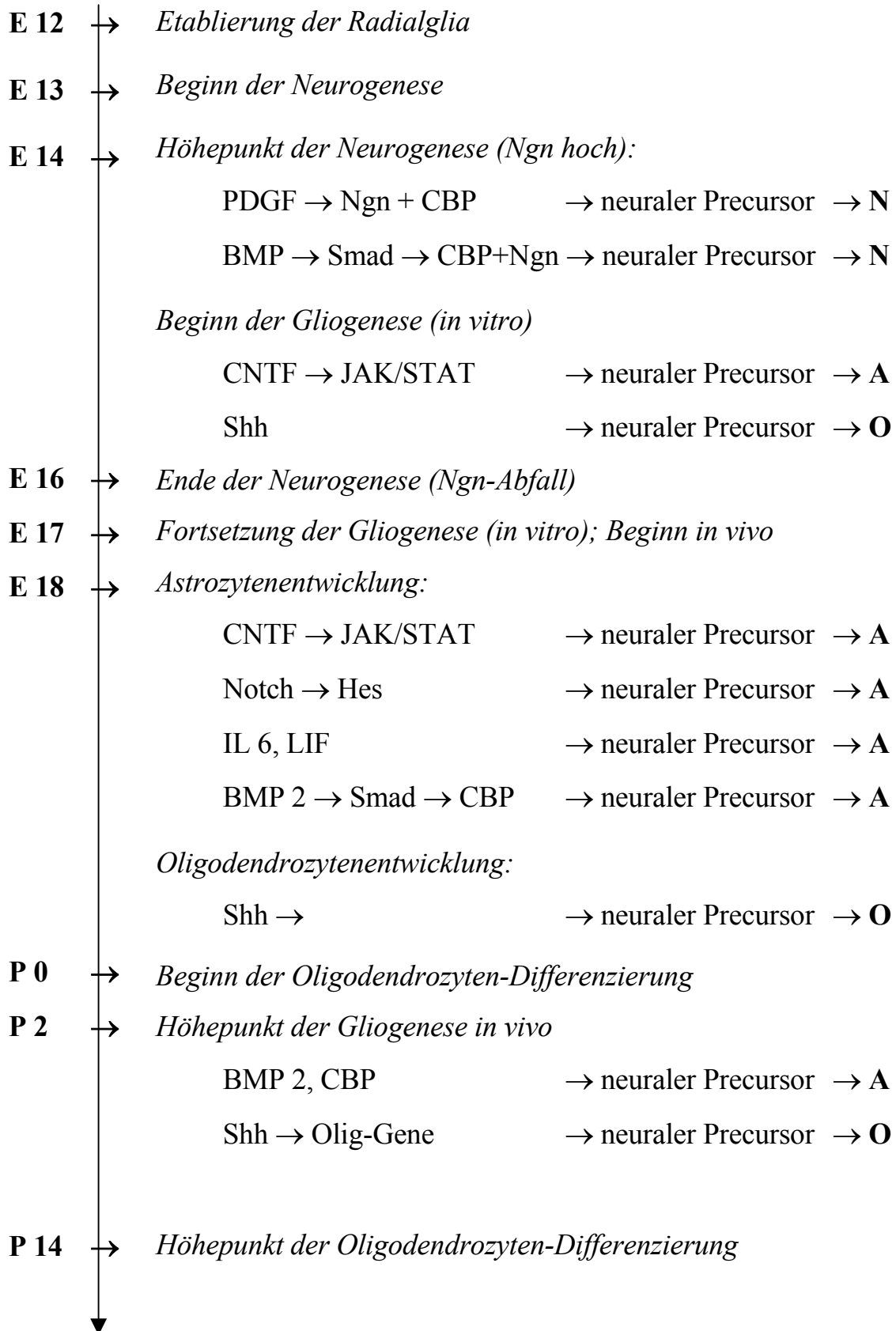


Tabelle 1: Zeitlicher Ablauf der Neuro- und Gliogenese im ZNS von Ratten während der embryonalen bzw. fetalen Entwicklung und der frühen postnatalen Phase. Dargestellt sind die in der jeweiligen Phase einwirkenden Einflussfaktoren.

Verwendete Abkürzungen:

N, A, O:	Neuronen, Astrozyten, Oligodendrozyten
PDGF:	platelet derived growth factor
Ngn:	Neurogenin
BMP:	bone morphogenic protein
Smad:	Sma-Mad homolog
CBP:	cAMP-response element bindendes Protein
CNTF:	ciliary neurotrophic factor
JAK/STAT:	Janus Kinase/signal transducers and activators of transcription
Shh:	Sonic hedgehog
Hes:	Hairy/enhancer of split
IL 6:	Interleukin 6
LIF:	Leukemia inhibitory factor

1.3.3. Einflüsse von Chorda dorsalis und Bodenplatte auf die Oligodendrogligenese

Die Einflüsse aus dem ventralen Bereich auf die neuroepithelialen Zellen des embryonalen Neuralrohres bzw. der Neuralplatte waren in den letzten Jahren Gegenstand vieler Untersuchungen. Es zeigte sich, dass sowohl Chorda dorsalis, als auch die Zellen der Bodenplatte hierbei eine entscheidende Rolle spielen. Die Letztere besteht aus einer spezialisierten Untergruppe von ventralen Mittellinienzellen und bildet sich als Reaktion auf induktive Signale aus der darunter liegenden Chorda dorsalis. Die Einflussnahme auf das Neuralrohr erfolgt zum einen durch von diesen beiden Strukturen entsandten Faktoren, zum anderen

durch kontaktvermittelte Signale [111;190;257;258]. Bewiesen werden konnte die Beeinflussung durch die Implantation von Chorda- bzw. Bodenplattengewebe in dorsale oder laterale Bereiche des Neuralrohres. Es resultierte daraus regelmäßig die Entwicklung von den bereits erwähnten ventralen Zelltypen im Einflussbereich des Implantats [226;246;258].

Trousse et al. [241] untersuchten *in vitro* den Einfluss von Chorda dorsalis und Bodenplattengewebe auf dorsale Rückenmarksabschnitte. Sie kultivierten dazu Mikroexplantate aus dem Rückenmark von E 4-Kükenembryonen mit Chorda- bzw. Bodenplattenzellen. In all diesen Kulturen konnten zahlreiche Oligodendrozyten-Vorläuferzellen anhand ihrer Reaktion mit dem monoklonalen Antikörper O4 (mAk O4) nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren in Kontrollkulturen, in denen sich nur die dorsal entnommenen Neuralrohrzellen befanden, keine derartigen Zellen zu finden. Orentas und Miller [180] kamen bei ähnlichen Experimenten an jüngeren Hühnerembryonen (Stadium 10 – 12; E 1,5 - 2) zu gleichen Resultaten.

Pringle et al. [197] kultivierten Rückenmarksabschnitte von E 13-Mäuseembryonen, denen aufgrund einer Mutation in kaudalen Abschnitten die Chorda dorsalis fehlte. Es zeigte sich, dass in Kulturen aus diesen Abschnitten sich weder Bodenplattenzellen noch Oligodendrozyten, erkennbar an ihrer Expression der Oligodendroglia-Marker basisches Myelinprotein (MBP) bzw. Galaktocerebrosid (GalC), ausbildeten. In den Kontrollkulturen aus den gesunden Rückenmarksabschnitten traten beide Zellarten regelmäßig auf.

Zum gleichen Ergebnis führten die Untersuchungen *in vivo* [197]. Rückenmarksschnitte, die ebenfalls aus E 13-Mäuseembryonen des selben Stammes entnommen wurden, wiesen in den Abschnitten, in denen die Mutation sich auswirkte, wiederum das Fehlen von Bodenplatte und PDGFR- α -reaktiven Zellen (PDGFR- α = α -Rezeptor des platelet derived growth factor, ein früher Marker der Oligodendroglia, siehe 2.2.1.) auf, während diese in den gesunden Bereichen in normaler Ausprägung vorhanden waren.

Poncet et al. [191] führten diesbezüglich in-vivo-Experimente am Rückenmark von Küken durch. Zum Nachweis der Oligodendrozyten wurde hier der monoklonale Antikörper O4 verwendet. Sie transplantierten in einem sehr frühen Stadium der Embryonalentwicklung (Stadium 8 – 10 = E 1,5) ein Segment der Chorda dorsalis in eine Position dorsal des zu diesem Zeitpunkt noch offenen Neuralrohres. Bei einem Teil der transplantierten Embryonen wurde am Tag E 4,5 Gewebe aus dem Bereich unterhalb des Chorda-Implantats für Zellkulturen entnommen. Darin fand sich nach Kultivierung über 10 Tage regelmäßig eine große Zahl an O4-positiven Zellen. Bei den anderen Embryonen erfolgte am Tag E 6,5 – 7 (Stadium 29 – 31) die Sektion. Es zeigte sich die Ausbildung einer ektopischen Bodenplatte direkt unterhalb des Implantats sowie O4-reaktive Zellen in der dorsalen Ventrikularzone, in identischer Anordnung wie im ventralen Bereich. Die Ausbildung der Precursor-Zellen dort war von der Transplantation unberührt. Darüber hinaus blieben die Bereiche zwischen den beiden Precursor-Pools stets frei von O4-positiven Zellen. Dies schließt die Möglichkeit aus, dass es sich bei den im Bereich des Implantats nachgewiesenen Oligodendrozyten-Precursoren um ventral entstandenen Zellen handelt, die nach dorsal migriert waren.

Ein ganz ähnliches Resultat wie bei der Chorda-Transplantation ergab sich, wenn bei ansonsten gleichem Versuchsablauf, Bodenplattengewebe aus E 4-Embryonen in dorsaler Position in E 1,5-Wirte eingesetzt wurde, die am Tag E 7 untersucht wurden. Allein die Anzahl der nachweisbaren O4-positiven Zellen war niedriger, was auf einen geringeren induktiven Effekt der Bodenplatte hinweist. Die Implantation von mesodermalem Gewebe aus dem Bereich der Somiten konnte hingegen nie die Ausbildung von Oligodendrozyten-Precursorzellen im dorsalen Neuralrohr hervorrufen.

Der Zeitpunkt der Induktion der ventralen Gewebe scheint sehr früh in der Embryonalentwicklung zu liegen. Explantate aus dem medialen Bereich der Neuralplatte (mit und ohne den Bereich der späteren Bodenplatte) von E 1,5-

Embryonen (Stadium 9 – 10) zeigten in-vitro bereits die Fähigkeit zur Oligodendrozytogenese, ohne dass sich Chordagewebe mit in der Kultur befand [191]. Dies beweist, dass der Einfluss dieser Struktur über das Stadium 10 hinaus nicht erforderlich ist, um Oligodendrozyten hervorzubringen. Allerdings zeigte sich, dass in Kulturen, in denen die Zellen der späteren Bodenplatte mit enthalten waren, eine deutlich höhere Anzahl an O4-positiven Zellen resultierte. Weiter lateral gelegene Abschnitte der Neuralplatte brachten keine Oligodendrozyten-Precursoren hervor.

Orentas und Miller [180] zeigten zudem bei ihren Transplantationsexperimenten an Hühnerembryonen, dass bei nach dem Stadium 13 (E 2,5) erfolgter Chordaimplantation keine Entwicklung von O4-positiven Zellen im dorsalen Neuralrohr mehr erfolgte. Sie konnten nachweisen, dass dies sowohl auf dem Verlust der induktiven Wirkung des Implantates beruhte, als auch auf der verloren gegangenen Fähigkeit des Neuralrohres, auf die Signale aus der Chorda zu reagieren. Die Ursache für letzteres liegt möglicherweise in der zu diesem Zeitpunkt erfolgten Induktion des dorsalen Neuralrohres, dorsale Strukturen hervorzubringen. Ein Beleg dafür ist die zeitgleich erstmalig nachweisbare Expression der Gene Dorsalin-1 (*dsl-1*), einem Mitglied der Transforming Growth Factor- β (TGF- β) Genfamilie, und Pax-3, die spezifisch für die dorsalen Bereiche des Neuralrohres sind [23;98]. Die Signale dieser beiden verändern offenbar die Umgebung derart, dass Einflüsse aus Chordagewebe hier nicht mehr auf die noch pluripotenten neuroepithelialen Zellen einwirken können. In Zellkultur allerdings ist dies noch möglich, wie die Untersuchungen von Trousse et al. (s.o., [241]) belegen.

Auch Orentas und Miller [180] konnten die Unabhängigkeit des Neuralrohres von induktiven Signalen ab Stadium 10 in Kükenembryonen belegen, indem sie nach diesem Zeitpunkt Chorda-Explantation vornahmen. Trotzdem entwickelte sich im ventralen Bereich eine zu Kontrollembryonen unveränderte Anzahl an O4-positiven Zellen.

1.3.4. Einfluss von Sonic hedgehog auf die Oligodendroglionogenese

Das unter 1.3.1. und 1.3.2. bereits angesprochene, vom Gen „Sonic hedgehog“ (Shh) codierte Protein wurde in jüngeren Studien als ein Faktor identifiziert, der in der Lage ist, die Differenzierung von frühen neuroepithelialen Zellen hin zu ventralen Zelltypen zu induzieren [71;76;213;214]. Das Shh-Gen der Wirbeltiere ist homolog zum Segment-Polaritäts-Gen Hedgehog der Drosophila. Das Shh-Protein wird im sich entwickelnden Rückenmark zunächst von Zellen der Chorda exprimiert und bewirkt u.a. die Induktion von Bodenplattenzellen und Motoneuronen. Dabei fällt auf, dass für die Induktion der Letzteren deutlich geringere Konzentrationen des Proteins erforderlich sind als bei der erstgenannten Induktion [144;214]. Nachfolgend wird auch in der Bodenplatte Shh-Expression nachweisbar. Sie ist sowohl hier als auch in der Chorda auf den frühen Zeitraum (bis E 4,5 bei Küken) während der Embryonalentwicklung beschränkt, in dem auch die ventrale Induktion durch diese Gewebe stattfindet [144].

Nachdem auch Oligodendrozyten zu den ventral entstehenden Zellen gehören, liegt es nahe, dass auch ihre Entstehung und Entwicklung den beschriebenen Einflüssen unterliegen.

Pringle et al. [197] kultivierten Explantate aus dem intermediären Bereich der Neuralplatte, aus der normalerweise keine Oligodendrozyten hervorgehen, zusammen mit Chorda-Fragmenten bzw. gereinigtem Shh-Protein. Dabei fanden sie, dass sich in beiden Versuchsanordnungen Oligodendrozyten entwickelten. Darüber hinaus konnten sie zeigen, dass die Shh-Konzentration, die in-vitro zur Ausbildung von Oligodendrozyten erforderlich war, der zur Induktion von Motoneuronen benötigten entsprach, was auf einen gemeinsamen Entwicklungsweg dieser beiden ventralen Zelltypen hindeutet, die zudem zeitlich kurz nacheinander im ventralen Neuralrohr entstehen [235]. Untersuchungen mit Hilfe von Retroviren weisen sogar auf die Existenz einer gemeinsamen früher Precursor-Zelle hin [130], wobei sich in frühen Embryonen vorzugsweise Motoneuronen entwickeln, später jedoch überwiegend Oligodendrozyten (siehe

auch 1.3.2.) [179]. Diese Beobachtung gilt allerdings nur für den Bereich des Rückenmarks, da in weiter rostral gelegenen ZNS-Bereichen keine Motoneuronen in den Oligodendroglia-Ursprungsorten vorhanden sind.

Auch Poncet et al. [191] untersuchten den Einfluss des Shh-Proteins auf das embryonale Neuroepithel im Hinblick auf die Oligodendrozyten-Entwicklung. Sie verwendeten dazu Fibroblasten aus Wachteln, die nach Retrovirus-Infektion eine Überexpression dieses Proteins aufwiesen. Wurden diese Zellen der Kultur von intermediären Neuralplatten-Zellen aus E 1,5-Kükenembryonen zugegeben, so entwickelten sich darin, im Gegensatz zu den Kontrollkulturen ohne Shh, O4-positive Zellen. Auch später (E 4) entnommene dorsale Rückenmarksgewebe reagierten auf die Cokultivierung mit diesen Fibroblasten, indem sie Oligodendrozyten-Progenitoren hervorbrachten.

In den weiter rostral gelegenen ZNS-Bereichen ist Shh während der embryonalen Entwicklung ebenfalls nachweisbar. Dort wird es von der Prächordalplatte produziert und induziert wiederum ventrale Mittellinienzellen als sekundäre Shh-Quelle [59]. Tekki-Kesaris et al. [237] konnten Shh-Expression im Bereich der vorderen Hypothalamusregion von Mäuseembryonen zeigen, einer Region, in der auch die ersten PDGFR- α -positiven Oligodendrozyten-Precursoren auftreten (siehe 1.5.). Die Blockade der Shh-Wirkung verhinderte die Entwicklung dieser Zellen. Auch in-vitro Untersuchungen zeigten die Notwendigkeit der Signale des Shh auf [237]. In Kulturen von Explantaten aus dem Prosencephalon von Rattenembryonen, denen neutralisierende anti-Shh-Ak zugesetzt wurden, entwickelten sich keine PDGFR- α -positiven Zellen.

Davies und Miller [60] untersuchten das Auftreten und die Wirkung des Shh-Proteins im embryonalen Metencephalon von Hühnerküken. Sie fanden dabei eine Verteilung dieses Proteins, die dem zeitlichen und örtlichen Auftreten der O4-reaktiven Zellen (siehe 1.5.) in den ventrikulären Zonen entsprach. Zu den gleichen Resultaten kamen auch Lin et al. in ihren Studien [138]. Um den Effekt von Shh auf die Entwicklung der Oligodendrozyten-Precursoren zu testen,

wurden den Embryonen neutralisierende anti-Shh-Antikörpern (anti-Shh-Ak) injiziert [60]. Erfolgte diese Injektion vor E 3, so resultierte daraus eine hochgradige Reduktion der Ausbildung von O4-positiven Zellen in allen Bereichen. Nach E 3,5 verabreichte Injektionen der anti-Shh-Ak hatten in der ventralen Ventrikularzone keinen Effekt mehr, allerdings entwickelten sich lateral und dorsal deutlich weniger Oligodendrozyten-Precursoren.

Auch in-vitro Untersuchungen wurden von Davies und Miller vorgenommen [60]. Sie untersuchten in Zellkulturen aus dem Metencephalon von Hühnerembryonen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien die Reaktion auf die oben bereits beschriebenen anti-Shh-Ak, sowie auf exogen zugeführtes Shh-Protein. Je früher die neuroepithelialen Zellen den Antikörpern ausgesetzt wurden, um so geringer war die Zahl der sich entwickelnden Oligodendrozyten-Vorläuferzellen. Betrug die Reduktion im Vergleich zu Kontrollkulturen bei am Tag E 3 entnommenen Proben 92 % (nach 5 Tagen in Kultur), so war diese in den E 4,5-Kulturen mit 19 % bereits signifikant geringer. Der Zusatz von Shh-Protein zu Explantaten aus dem dorsalen Metencephalon (E 3) bewirkte in mehr als einem Drittel der Zellkulturen die Ausbildung von O4-reaktiven Zellen, im Gegensatz zu sämtlichen Kontrollkulturen. Darüber hinaus war in E 4,5-Kulturen aus dem intermediären und dorsalen Bereich ein deutlicher Anstieg der Oligodendrozyten-Precursoren nach Shh-Zugabe zu sehen, der sich durch Erhöhung der Shh-Konzentration noch verstärken ließ. Diese Zunahme ließ sich zum einen auf eine höhere Überlebensrate der Precursor-Zellen, zum anderen auf eine gesteigerte Proliferationsrate zurückführen. Die vermehrte Proliferation kann dabei aber auch als die Folge der höheren Überlebensrate von proliferationsfähigen Zellen interpretiert werden.

Die Resultate aus all diesen Untersuchungen legen nahe, dass der Shh-Signalweg für die Entwicklung von Oligodendrozyten unabdingbar ist. Sowohl im Rückenmark als auch im Metencephalon liegen die Ursprungsorte der ersten identifizierbaren Oligodendrozyten-Precursorzellen in unmittelbarer

Nachbarschaft zu den Bereichen, in denen Shh-Expression nachweisbar ist [175;179;186;237]. Das Protein unterstützt dabei offenbar die Differenzierung von frühen neuroepithelialen Precursorzellen in Richtung Oligodendroglia. Hinweise darauf ergaben sich auch aus Beobachtungen von Lu et al. [140] und Zhou et al. [267], die nachweisen konnten, dass Shh die Expression der basischen Helix-Loop-Helix-Proteine Olig 1 und 2 deutlich hochreguliert (siehe auch 2.2.1.). Die Blockade von Shh-Signalen schaltet hingegen die Olig-2-Expression vollständig aus [1]. Diese Transkriptionsfaktoren, die spezifisch für Oligodendrozyten sind, treten sowohl im rostralen wie auch im kaudalen Neuroepithel auf und spielen möglicherweise in der frühen Differenzierungsphase von Oligodendrozyten eine wichtige Rolle.

1.4. Ursprungsorte im Rückenmark

Im ZNS von Adulten finden sich Oligodendrozyten in allen Bereichen, aber bevorzugt in der sog. weißen Substanz. Diese Tatsache legt den Schluss nahe, dass sie auch an den Orten, an denen sie später gebraucht werden, aus den Stammzellen entstehen. Untersuchungen im Hinblick auf das erstmalige Auftreten der Oligodendroglia-Vorläuferzellen ergaben jedoch Hinweise darauf, dass dies auf bestimmte Regionen des embryonalen ZNS begrenzt ist.

In Studien zur Erforschung der Ursprungsorte der Oligodendrozyten fand häufig der α -Rezeptor für den platelet derived growth factor (PDGFR- α) als Marker Verwendung, da dieser sich als sehr spezifisch für die Oligodendroglia-Vorläuferzellen erwiesen hat [104;196] (siehe auch 2.2.). Aber auch andere Marker dieser Zellen wie zyklische Nukleotid-Phosphodiesterase (CNP), die Splicing-Variante DM-20 des Proteolipidprotein (PLP/DM-20) oder die Reaktion mit den monoklonalen Antikörpern (mAk) A2B5 oder O4 wurden angewandt. Die Untersuchungen wurden zum einen an Zellkulturen, zum anderen in situ durchgeführt.

Werden Proben aus dem Rückenmark von Rattenembryonen ab Tag 14 der Embryonalentwicklung (E 14) in ventrale und dorsale Hälften geteilt und getrennt voneinander kultiviert, so zeigt sich, dass sich Oligodendrozyten nur in den Kulturen entwickeln, die aus den ventralen Bereichen stammen. Bei nach Tag E 16 entnommenem Material bilden sich hingegen sowohl in den ventralen als auch in den dorsalen Kulturen Oligodendrozyten aus [84;104;253]. Bei Mäusen wurden die gleichen Untersuchungen am Tag E 12,5 und E 13,5 gemacht [238]. Auch hier entstanden nur in den ventralen Kulturen die Oligodendrozyten. Ähnliche Experimente wurden auch mit Zellen aus dem Rückenmark von Vögeln durchgeführt [191].

Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass die ventral entstehenden Oligodendrozyten-Precursorzellen von ihrem Entstehungsort aus allmählich dorsale Regionen besiedeln.

Weitere Hinweise für die Entstehung der Precursoren in bestimmten Regionen lieferten in-situ Studien an Rückenmarksschnitten. Hierbei fanden sich im Rückenmark von Ratten wieder um E 14 die ersten PDGFR- α positiven (PDGFR- α +) Zellen ausschließlich in der ventralen Ventrikularzone dorsal der ventralen Mittellinie. Bei den selben Untersuchungen an Mäusen fanden sich diese Zellen am gleichen Ort erstmalig zum Zeitpunkt E 12,5 sowie E 7 bei Küken [196;197].

Es konnten in dieser Region außerdem auch noch weitere Marker für frühe Vertreter der Oligodendrozyten-Zelllinie nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich um das Enzym CNP, die Splicing-Variante DM-20 des PLP, sowie im Rückenmark von Küken um das vom mAk O4 erkannte Antigen [175;238;263]. Das letztere wird bei aviären Spezies bereits ab Tag 6 der Embryonalentwicklung (E 6), und damit in der sehr frühen Phase der Oligodendrozyten-Precursorzelle im ventralen ventrikulären Neuroepithel exprimiert. Bei Nagern tritt die O4-Reaktivität erst im Stadium des späten Progenitors oder Prä-Oligodendrozyten auf. Die als Oligodendrozyten-Precursoren identifizierten Zellen wiesen einen

kolbenförmig endenden Fortsatz auf und waren teilweise in unmittelbarer Nachbarschaft zum Zentralkanal lokalisiert. Andere Vertreter dieses Zellstadiums lagen tiefer in der neuroepithelialen Schicht und zeigten eine dorsoventrale, radiale aber auch rostrokaudale Orientierung. Fanden sich bei den E 7-Küken noch relativ wenige Precursorzellen in der dorsalen Rückenmarks-Hälfte, so waren es einen Tag später bereits deutlich mehr. In der dorsalen Ventrikularzone waren allerdings zu keiner Zeit solche Zellen nachweisbar. Am Tag E 9 traten die ersten GalC⁺/O1⁺ Zellen (GalC = Galaktocerebroside, O1⁺ = Bindung des mAk O1), d.h. differenzierte Oligodendrozyten, im Rückenmark der Küken auf [175]. Die ersten DM-20-positiven (DM-20⁺) Zellen konnten Timsit et al. [238] im Stadium E 14,5 im Neuroepithel des Rückenmarkes von Mäusen finden. Angeordnet waren sie in zwei Reihen beidseits des Zentralkanals im ventralen Bereich, mit Kontakt zu dessen Lumen. Diese Zellsäulen ließen sich bis in den Bereich der Medulla oblongata und der Pons verfolgen und traten auf der gesamten Länge simultan auf. Im Bereich der Bodenplatte reagierten keine Zellen DM-20⁺. Nachfolgend verschwanden diese Zellen aus der ventrikulären Zone und verteilten sich in der grauen und weißen Substanz.

Auch beim Menschen wurden entsprechenden Studien durchgeführt. Hajihosseini et al. [103] untersuchten dazu an embryonalen bzw. fetalen Rückenmarksschnitten die Expression von basischem Myelinprotein (MBP), CNP, PDGFR- α oder myelinspezifischen Glykolipiden, sowie die Reaktion mit den mAk O4, R und O1. Sie konnten dabei ab Tag 45 post conceptionem (p.c.) auf der gesamten Länge des sich entwickelnden Rückenmarks Zellen nachweisen, die MBP⁺, CNP⁺ und PDGFR- α ⁺ reagierten, oder die mAk O4 und R an sich banden. Diese Zellen waren auf beiden Seiten des Zentralkanals, in unmittelbarer Nachbarschaft zur ventrikulären Zone oberhalb der Bodenplatte lokalisiert. Einige von ihnen schienen bereits mehrere Fortsätze ausgebildet zu haben, von denen wenige in die Ventrikularzone hineinreichten. Ab Tag 53 p.c. nahmen diese Zellen an Zahl zu und begannen O1-Immunoreaktivität zu zeigen, als Ausdruck

der Galaktocerebrosid-(GalC)-Produktion. Zum gleichen Zeitpunkt waren gleichartig reagierende Zellen im ventralen Bereich neben der Bodenplatte zu sehen, von wo aus sie sich in lateraler und dorsaler Richtung weiter verbreiteten. In einem Fall war der Nachweis von DM-20 am Tag 30 p.c. in den ventralen zwei Dritteln des Neuralrohres möglich.

All diese aufgeführten Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, dass die Oligodendrozyten-Precursor-Zellen von ihrem ventralen Ursprung aus die lateralen und dorsalen Regionen des Rückenmarkes besiedeln. Die Möglichkeit, dass es auch dorsale Entstehungsorte gibt, ist jedoch nicht sicher ausgeschlossen. Im Hinblick darauf führten sowohl Cameron-Curry und Le Douarin [45] als auch Pringle et al. [195] Untersuchungen an Huhn-Wachtel-Chimären durch. Dabei wurde Gewebe aus dorsalen bzw. ventralen Bereichen des Neuralrohres von Wachtel-Embryonen entnommen und bei Hühner-Küken im selben Entwicklungsstadium an derselben Position implantiert. Die beiden Forschergruppen kamen dabei zu unterschiedlichen Ergebnissen. Cameron-Curry und Le Douarin beobachteten die Entstehung von Oligodendrozyten sowohl aus den Transplantaten in der ventralen als auch der dorsalen Hälfte des Rückenmarkes. Dem gegenüber steht das Resultat von Pringle et al., die nur aus den ventralen Transplantaten Oligodendrozyten entstehen sahen, während dies bei den dorsal implantierten Geweben nicht nachweisbar war .

Auch Hardy und Friedrich [106] führten diesbezüglich Transplantationsexperimente durch. Sie implantierten Gewebe von transgenen Mäuseembryonen (E 10,5, E 12,5, E 14,5) aus verschiedenen ZNS-Regionen in das Gehirn von neonatalen Mäusen. Platziert wurden die Transplantate in den Bereich der Subventrikularzone nahe der Seitenventrikel, einer Region, aus der bekannterweise Oligodendrozyten entstehen. Dabei stellen sie fest, dass sich unabhängig von Entnahmezeitpunkt und -ort aus allen implantierten ZNS-Fragmenten Oligodendrozyten entwickelten. Diese Resultate legen nahe, dass das Potential zum Hervorbringen von Oligodendrozyten-Precursorzellen in vielen

Bereichen der ZNS-Anlage vorhanden ist, dass es aber nur an lokal begrenzten Orten tatsächlich zur Ausbildung dieser Zellen kommt. Lokale Einflüsse dürften dabei die Ausschlag gebenden Faktoren sein.

1.5. Ursprungsorte im Gehirn

Auch in den verschiedenen Abschnitten des Gehirns scheint die Oligodendrozyten-Entwicklung lokal begrenzt zu sein. Diesbezüglich wurden ähnliche Experimente, wie die im Bereich des Rückenmarkes beschriebenen, mit Zellen bzw. Schnittpräparaten aus dem embryonalen Gehirn von unterschiedlichen Spezies durchgeführt.

Werden Zellen aus dem *ventralen Telencephalon* (Striatum) von Rattenembryonen am Tag E 13 entnommen und kultiviert, so zeigt sich, dass daraus eine weit größere Anzahl an Oligodendrozyten hervorgehen als aus Zellen des dorsalen Telencephalons (cerebraler Cortex) [29]. Zu einem späteren Zeitpunkt entnommen, zeigen auch die kortikalen Zellen die Fähigkeit zur Oligodendroglionese. Ähnliche Untersuchungen an Zellen aus Mäuseembryonen ergaben, dass nur in den Kulturen der Zellen aus dem *Diencephalon* (E 12,5) Oligodendrozyten entstehen, nicht jedoch in denjenigen aus dem Mesencephalon oder dem Cortex [238].

Beim in-situ-Nachweis von PDGFR- α fand sich der erste nachweisbare Herd von Oligodendrozyten-Precursor-Zellen ventral im Bereich der *Hypothalamusvorderregion* am Tag E 13 in Rattenembryonen (E 11 bei Mäusen) [196;237]. Im Gehirn von Hühnerküken konnten Perez-Villegas et al. [186] einen entsprechenden Herd am Tag E 5 in der *Entopeduncularregion* nachweisen. Woodruff et al. [256] fanden PDGFR- α + Zellen am *Boden des dritten Ventrikels* bei zwei Tage älteren Küken. Dieser letztere Ursprungsort konnte bei Nagern nicht nachgewiesen werden.

Ebenfalls am Gehirn, speziell dem *Metencephalon*, von Hühnerküken führten Ono et al. [176] ihre Untersuchungen durch. Sie benutzten zum Nachweis der Oligodendrozyten-Vorläuferzellen die mAk O4 und O1. Die ersten O4+ Zellen konnten am Tag E 5 in der *medialen Ventrikularzone des ventralen Metencephalons* nahe der Bodenplatte entdeckt werden. Einen Tag später reichte die Zone dieser Zellen bereits bis in die lateralen Bereiche der Pons hinein, und am Tag E 7 wurde die Kleinhirnanlage erreicht. O1-Reaktivität trat im Bereich der Pons am Tag E 8 auf, im Kleinhirn am Tag E 12. Um die Fähigkeit des untersuchten ZNS-Gewebes zur Oligodendrogenese zusätzlich zu testen, wurden aus den verschiedenen metencephalen Bereichen (mediale und laterale Pons, Kleinhirn) vom Tag E 5 bis E 8 Proben für Zellkulturen entnommen. Es zeigte sich, dass die O4+ Zellen in den Kulturen zeitgleich mit denen in den Gehirnschnitten auftraten.

Davies et al. [60], die ebenfalls das Gehirn von Hühnerküken untersuchten, fanden die gleichen ersten Herde von O4-reaktiven Zellen im *ventralen Metencephalon* und beobachteten auch das gleiche Verteilungsmuster. Darüber hinaus konnten sie jedoch auch noch laterale und dorsale Ursprungsorte feststellen. In der lateralen Ventrikularzone wiesen sie am Tag E 6 O4+ Zellen nach, und einen Tag später dorso-lateral und dorsal, ebenfalls im ventrikulären Bereich. Dabei erschienen diese Ursprungsherde jeweils getrennt von den zuvor weiter ventral aufgetretenen Herden durch Zonen, in denen keine O4-Reaktivität nachweisbar war, was demzufolge ausschließt, dass sie durch Migration entstanden waren.

Die Entnahme von Gewebe für Zellkulturen aus ventralen, dorsalen und intermediären Bereichen des Metencephalons zu unterschiedlichen Zeitpunkten, sollte die Fähigkeit zur Oligodendrogliogenese zusätzlich dokumentieren [60]. In den ventralen Kulturen entwickelten sich in allen Fällen (ab E 3) O4-positive Zellen. Während die intermediären und dorsalen ZNS-Gewebe zu diesem Zeitpunkt noch keine derartigen Zellen hervorbringen konnten, so zeigten sie

diese Kapazität in später (ab E 4) entnommenen Proben auch, allerdings immer in geringerem Maße als die ventralen Gewebe. Diese Resultate weisen darauf hin, dass intermediär und dorsal gelegene Bereiche des Metencephalons zwischen Stadium 20 (E 3) und 24 (E 4), im Hinblick auf ihre Fähigkeit Oligodendrozyten-Precursorzellen zu entwickeln, weitgehend unabhängig von ventralen Signalen werden. Die deutlich größere Zahl dieser Zellen in den ventralen Zellkulturen lässt jedoch in diesem Bereich die Hauptquelle der Oligodendroglia vermuten. Um Migrationprozesse aus der ventralen in die weiter lateral und dorsal gelegene Ventrikularzone auszuschließen, wurden Zellen nahe der ventralen Mittellinie angefärbt und ihre Verteilung beobachtet. Keine dieser markierten Zellen trat je weiter dorsal im ventrikulären Bereich in Erscheinung.

Neben den oben beschriebenen Ursprungsorten im Metencephalon konnten Ono et al. [178] auch Oligodendrozyten-Progenitoren im *Nervus opticus* anhand ihrer positiven Reaktion auf den mAk O4 nachweisen. Sie zeigten, dass diese ihren *Ursprungsort* in der ventralen Mittellinie am *Boden des dritten Ventrikels* hatten, einem Fokus, den auch Woodruff et al. (s.o. [256]) gesehen hatten. Dort waren diese Zellen erstmalig am Tag E 5 zu sehen, einen Tag später fanden sie sich bereits im Bereich des Chiasmas und am Tag E 9 über den gesamten N. opticus verteilt. Einen weiteren Tag später waren auch in der Retina O4+ Zellen nachweisbar. Oligodendrozyten treten in der Retina von Vögeln regelmäßig auf; bei Säugetieren, mit Ausnahme des Kaninchens, finden sich diese Zellen dort nicht [167;177].

Hardy und Friedrich [106] untersuchten anhand der Reaktion mit den mAk O4, R und O1 das Auftreten von Oligodendrozyten im Gehirn von Mäusen (siehe Abbildung 4). Sie fanden dabei ab dem Tag E 14,5 Zellen, die mit allen drei Antikörpern reagierten. Lokalisiert waren sie zu diesem Zeitpunkt ausschließlich im sich entwickelnden *Met- und Myelencephalon* - im Bereich der Medulla beidseits der Medianlinie bis in die Region der Pons reichend. Nach kaudal ließ sich die Zone der O4+/O1+/R+ Zellen bis ins Rückenmark verfolgen, wo sie sich,

wie bereits erwähnt, im ventralen Bereich fortsetzte. In den weiter kranial gelegenen Gehirnregionen waren zu diesem Zeitpunkt keine derartig reagierenden Zellen zu finden.

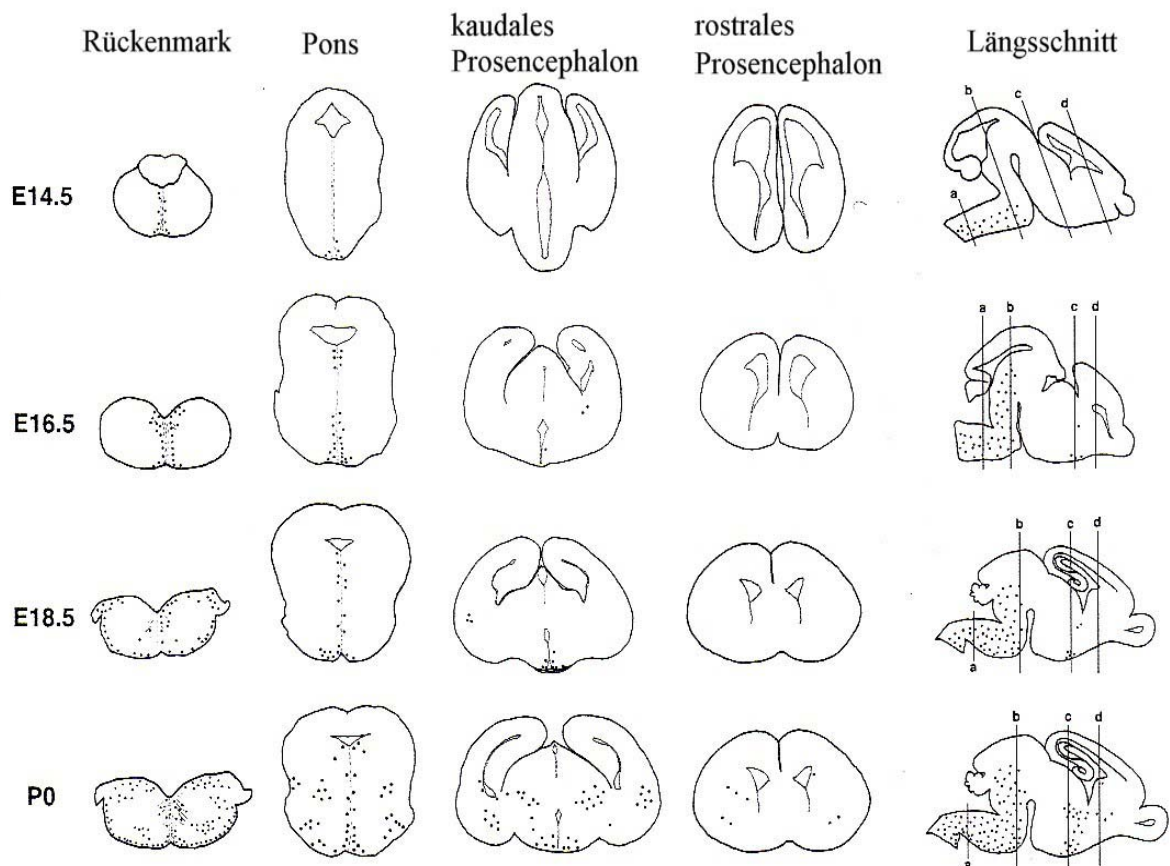


Abbildung 4: Lokalisation von Oligodendrozyten während der embryonalen Gehirnentwicklung. Die Punkte markieren die Position von O4+/O1+/R+-Zellen am Tag E 14.5, 16.5, 18.5 und P0 an verschiedenen Orten des Gehirns. Die Positionen der Querschnitte sind im Längsschnitt markiert (aus Hardy und Friedrich, 1996 [106]).

Erst am Tag E 16,5 erschien zusätzlich zu der kaudalen Gruppe eine weitere im **ventralen Di- und Telencephalon**. Sie bestand aus einigen wenigen Zellen im Bereich des Hypothalamus nahe des dritten Ventrikels sowie in der Capsula

interna. Zwischen diesen beiden Gruppen blieb das kaudale Diencephalon bis zum Zeitpunkt der Geburt frei von Oligodendrozyten. Die Zellen im kaudalen Bereich hatten an Zahl zugenommen, ihre Lokalisation war aber unverändert. Einige Zellen in der Ventrikularzone des vierten Ventrikels waren neu aufgetreten. Bei einer weiteren Untersuchung zwei Tage später war das Verteilungsmuster im rostralen Bereich weitgehend unverändert, die Zellen hatten sich aber deutlich vermehrt. Die kaudale Gruppe hatte sich mittlerweile bis in die Marginalzone ausgedehnt und im paramedianen Bereich wurden die ersten Myelinscheiden nachweisbar. Um den Zeitpunkt der Geburt (P 0) hatten sich die O4+/O1+/R+ Zellen im rostralen Bereich bis in das Putamen und in die Nähe der SVZ der Seitenventrikel ausgebreitet

Timsit et al. [238] suchten mittels in-situ Hybridisation die Orte im Gehirn, an denen Oligodendrozyten, bzw. ihre Vorläuferzellen, durch den Marker PLP/DM-20 erstmalig in Erscheinung treten (siehe Abbildung 5). Als Probenmaterial dienten ihnen Schnitte aus dem Gehirn von Mäuseembryonen vom Tag E 8,5 an bis zum postnatalen Tag 1 (P 1). Am Tag E 9,5 wurde die erste DM-20-Expression sichtbar. Sie beschränkte sich auf Zellen in der *Ventrikularzone* der Laterobasalplatte *des Diencephalons* beidseits der Mittellinie. Drei Tage später (E 12,5) waren diese Zellen aus der germinalen Zone verschwunden und traten nun in der sich ausbildenden Mantelzone auf. Dabei dehnt sich der Bereich der markierten Zellen zum einen nach dorsal, zwischen anteriorem und posteriorem Thalamus, zum anderen nach rostral entlang der Basalplatte des *Hypothalamus* aus. Eine zweite Gruppe von DM-20+ Zellen erschien in der anterioren *Entopeduncularregion* im basalen Telencephalon. Durch eine deutliche Lücke von den genannten Zellgruppen getrennt, wurde auch im kaudalen *Rhombencephalon* DM-20-Expression sichtbar. Am Tag E 14,5 wurden DM-20+ Zellen im Bereich der Pons sowie der Medulla oblongata nachweisbar. Diese Zellgruppe erstreckte sich bis ins Rückenmark hinein, wo auf der gesamten Länge entsprechend reagierende Zellen sichtbar waren (siehe 1.4.). In den Schnitten aus

den folgenden Tagen zeigte sich vor allem eine deutliche Zunahme der DM-20+ Zellen sowie Migration aus den Ursprungsorten heraus in die sich entwickelnde graue und weiße Substanz. Neben diesen Haupttherden fanden sich noch Zellen mit DM-20-Expression im sich ausbildenden olfaktorischen System (E 12,5: olfaktorisches Blastem und Nervenbahnen; E 14,5: zusätzlich das Riechepithel in der Fossa nasalis). Und auch in Neuralleisten-Derivaten war ab E 12,5 eine entsprechende Reaktion nachweisbar. Die Ganglien von Nervus trigeminus, N. facialis und N. statoacusticus sowie ihre Wurzeln reagierten deutlich DM-20-positiv.

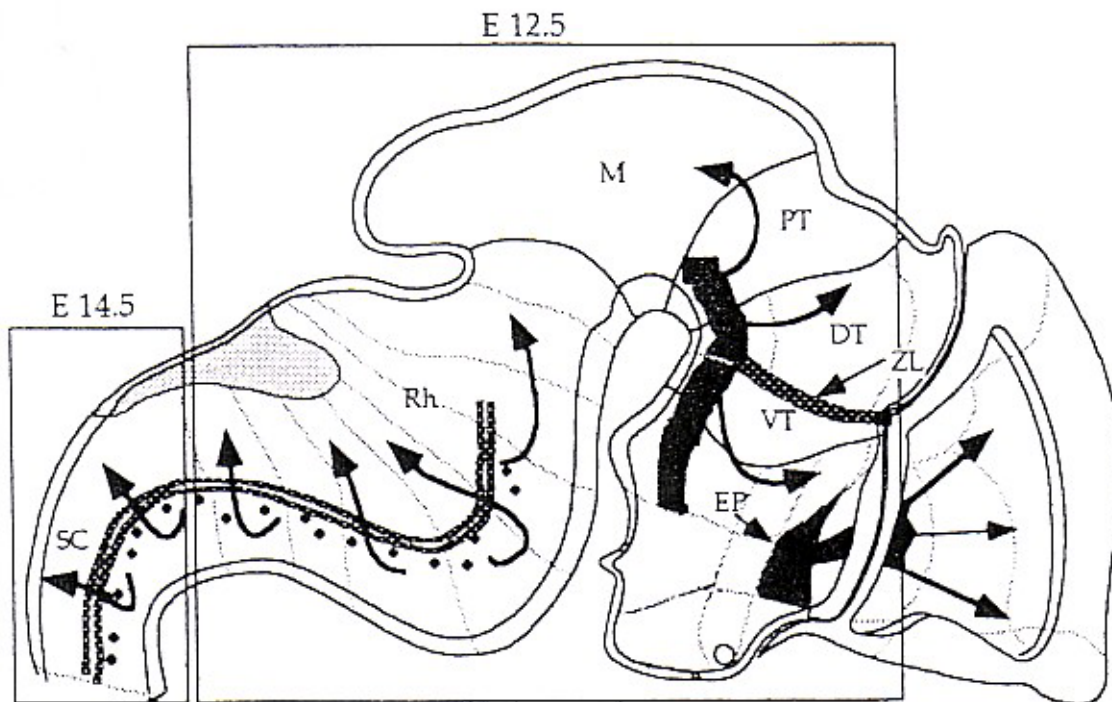


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Auftretens und der nachfolgenden Migration von DM-20-positiven Oligodendrozyten-Precursorzellen. Im Rückenmark und dem Rhombencephalon treten sie in zwei Reihen ventral entlang des Zentralkanals auf. Im Prosencephalon findet sich eine Gruppe entlang der Zona limitans zwischen ventralem und dorsalem Thalamus. Eine zweite Gruppe zeigt sich in der Bodenplatte des Diencephalons und in der Entopeduncularregion (SC – Rückenmark, Rh – Rhombencephalon, M – Metencephalon, PT –

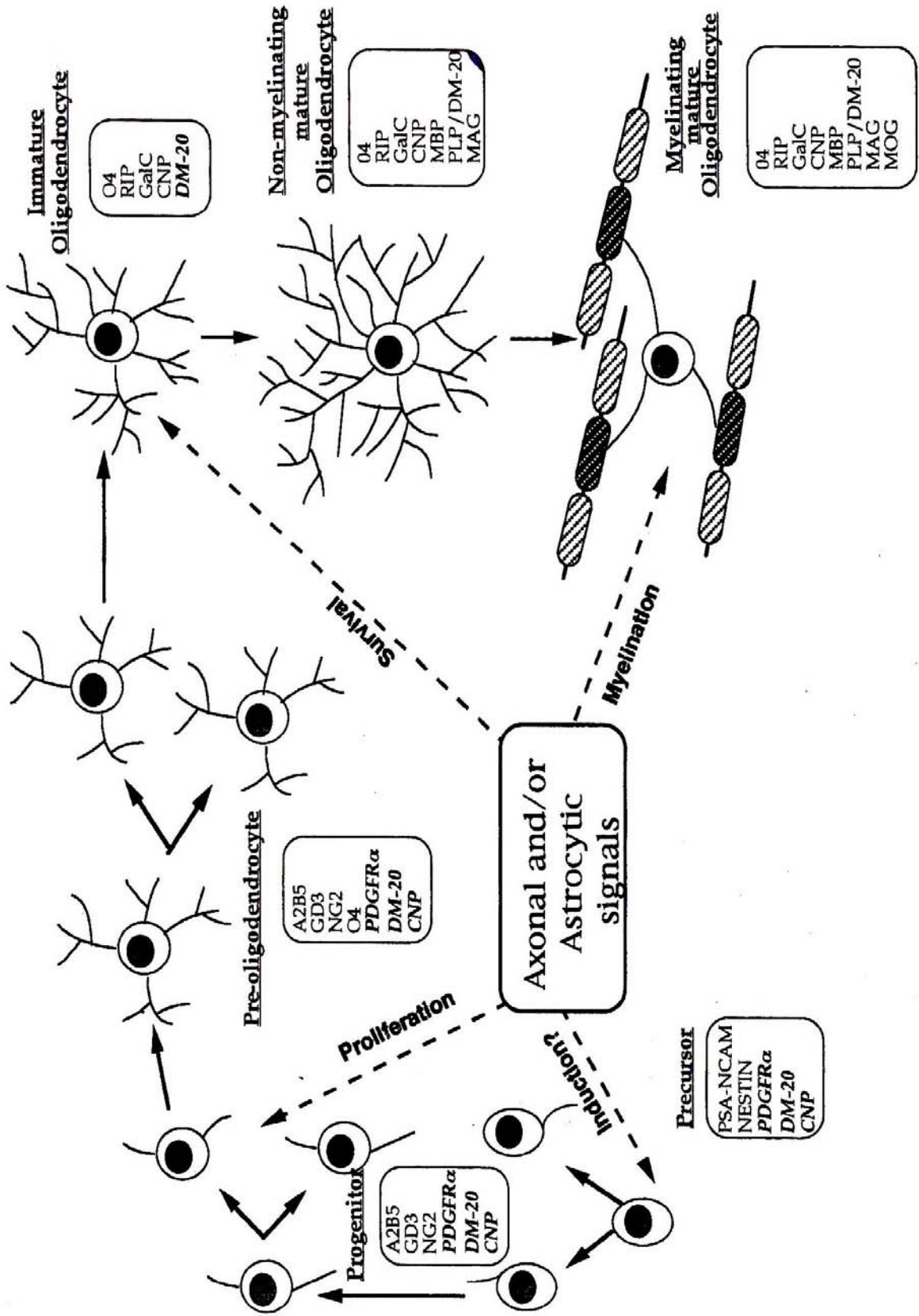
Präectum, DT – dorsaler Thalamus, VT – ventraler Thalamus, ZL – Zona limitans intrathalamica, EP - Entopeduncularregion). Nach Timsit et al., 1995 [238].

Die vorliegenden Untersuchungsergebnissen aus den verschiedenen Studien weisen darauf hin, dass die *Oligodendrozyten des Gehirns* sich aus *zwei unterschiedlichen, überwiegend ventral lokalisierten Precursor-Pools* heraus entwickeln. Dies ist zum einen der *kaudale Pool im Rhombencephalon*, der sich bis in das Rückenmark erstreckt, zum anderen der *rostrale Pool im kaudalen Teil des Diencephalons*, von dem aus Mittel- und Vorderhirn mit Oligodendrozyten besiedelt werden.

2. Differenzierung und Proliferation

2.1. Stadien der Differenzierung

Nachfolgende Abbildung 6: Schematische Darstellung der Oligodendrozyten-Differenzierung mit den stadienspezifischen Markermolekülen. Nach Baumann et al., 2001 [24]. Erläuterungen zu den Stadien und Markern siehe Text.



2.1.1. Vorläuferstadien (Abbildungen 6 und 8)

Die früheste heute bekannte Precursor-Zelle, die sog. ***Pre-GD3-Zelle*** (GD3 = Gangliosid GD3) ist monopolar, besitzt Proliferationskapazität und exprimiert auf ihrer Oberfläche das Embryonic Neural Cell Adhesion Molekül (weitere Ausführungen zu den Markermolekülen unter 2.2.).

Sie entwickelt sich weiter zu einer ebenfalls proliferierenden, bipolaren und hochmotilen ***GD3+-Precursor-Zelle***, die mit Hilfe der monoklonalen Antikörper (mAk) Anti-GD3 und A2B5 identifiziert werden kann. In Zellkulturen erweist sich dieses Vorläuferstadium als bipotent, d.h. es kann sich daraus in Abhängigkeit von den Bedingungen in der Kultur entweder ein bestimmter Astrozytentyp (Typ 2-Astrozyt) oder ein Oligodendrozyt entwickeln. Dieses Potential führte zu der Benennung ***O-2A-Progenitor***. Ob allerdings diese Differenzierungsrichtung auch in vivo vorkommen ist bis heute umstritten.

Als nächstes entsteht eine multipolare Zelle, die noch proliferativ aber nicht mehr migratorisch aktiv ist. Dieses Stadium wird unterschiedlich benannt: ***Pro-Oligodendroblast*** oder ***Prä-Oligodendrozyt***. Die Identifikation dieser Zelle erfolgt wiederum mit Hilfe von mAk; hier kommt der mAk O4 zum Einsatz, welcher das sulfatierte Zelloberflächen-Antigen POA (Pro-Oligodendroblast-Antigen) markiert.

Das sich nun entwickelnde Stadium ***Pre-GalC*** ist charakterisiert durch die Typisierbarkeit mit dem mAk R aber nicht mit dem Anti-GalC mAk O1. Diese drei zuletzt beschriebenen Stadien werden oft zusammenfassend als ***O-2A-Progenitor*** bezeichnet, unterscheiden sich aber neben den Reaktionen auf biochemische Marker auch funktionell, so z.B. in ihrer elektrischen Aktivität, ihrer Empfänglichkeit für äußere Einflüsse und Migrationsfähigkeit [12;24;95;188].

2.1.2. Differenzierte Oligodendrozyten

Differenzierte Oligodendrozyten exprimieren das Gangliosid GD3 nicht mehr und befinden sich in postmitotischem Zustand. Sie bilden weitere Fortsätze aus und synthetisieren Galaktocerebrosid (GalC) sowie das Enzym zyklische Nukleotid-Phosphodiesterase (CNP). Die frühesten Formen, welche diese Charakteristika aufweisen werden als unreife Oligodendrozyten angesehen, die sich im weiteren zu reifen, aber noch nicht myelinisierenden Oligodendrozyten differenzieren. Diese sind dann bereits über den Nachweis von Myelinproteinen wie MBP (basisches Myelinprotein), Proteolipidprotein (PLP) oder Myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG) identifizierbar [24;149;156;188].

2.1.3. Die reifen, myelin-produzierenden Oligodendrozyten

Die vollständig ausgereiften Oligodendrozyten, die für die Bildung und Erhaltung der Myelinscheiden im ZNS verantwortlich sind, lassen sich ebenfalls durch Oberflächenmoleküle identifizieren. Sie exprimieren wie bereits die unreifen Formen die Myelinproteine MBP, PLP und MAG, aber darüber hinaus lässt sich auch noch das Myelin/Oligodendrocyt-Glykoprotein (MOG) sowie die aktive Synthese von Myelinmembranen nachweisen [188].

Anhand ihrer Morphologie teilte bereits Hortega [210] die reifen Oligodendrozyten in vier Klassen (I-IV) ein. Seine Klassifikation richtete sich nach der Größe der Zellen sowie Art, Länge und Komplexität der Fortsätze:

Typ I: kleines Soma mit vielen langen und dünnen Fortsätzen, kaum Verzweigungen; er stellt die häufigste Zellform dar.

Typ II: größerer Zellkörper, wenige, dickere Fortsätze mit Verzweigung in Sekundärfortsätze; v.a. an dünnen, myelinisierten Axonen, seltener nahe bei Neuronen in der grauen Substanz gelegen.

Typ III: meist zwei Fortsätze, die sich netzartig verzweigen

Typ IV: länglicher Zellkörper, wenige Fortsätze; nahe bei Axonen liegend.

Butt et al. [42] unterscheiden ebenfalls vier Subtypen von myelinisierenden Oligodendrozyten. Sie orientieren sich dabei an Zellgröße und am Kaliber der myelinisierten Axone:

Typ I: kleine Zellen, mit kurzen dünnen Myelinscheiden für bis zu 30 Axone kleinen Durchmessers

Typ II und III: intermediäre Formen

Typ IV: große Zellen; formen dicke und lange Myelinscheiden für wenige, aber großkalibrige Axone.

Mori und Leblond [162] differenzierten mittels Elektronenmikroskopie drei Typen: helle, mittlere und dunkle (siehe Abbildung 7). Die aktiv myelinisierenden Zellen waren dabei die größten und wiesen ein auch schon bei lichtmikroskopischer Betrachtung helles Zytoplasma auf, welches reich an Zellorganellen (Mitochondrien und Golgi-Zisternen) war, was auf die hohe Syntheseleistung dieser Zellen hinwies. Die ovalen Zellkerne waren blass, euchromatinreich und zeigten zentral liegende, deutliche erkennbare Nukleoli. Der für die Erhaltung der Myelinscheiden zuständige Zelltyp war im Vergleich dazu kleiner, hatte deutlich weniger Zytoplasma und Zellorganellen. Die runden Nuklei waren dunkel und reich an Heterochromatin. Der mittlere Zelltyp stellte das Übergangsstadium zwischen diesen beiden Formen dar. Der Zellkern war oval bis länglich und ließ in seiner Peripherie isolierte Chromatinmassen erkennen.

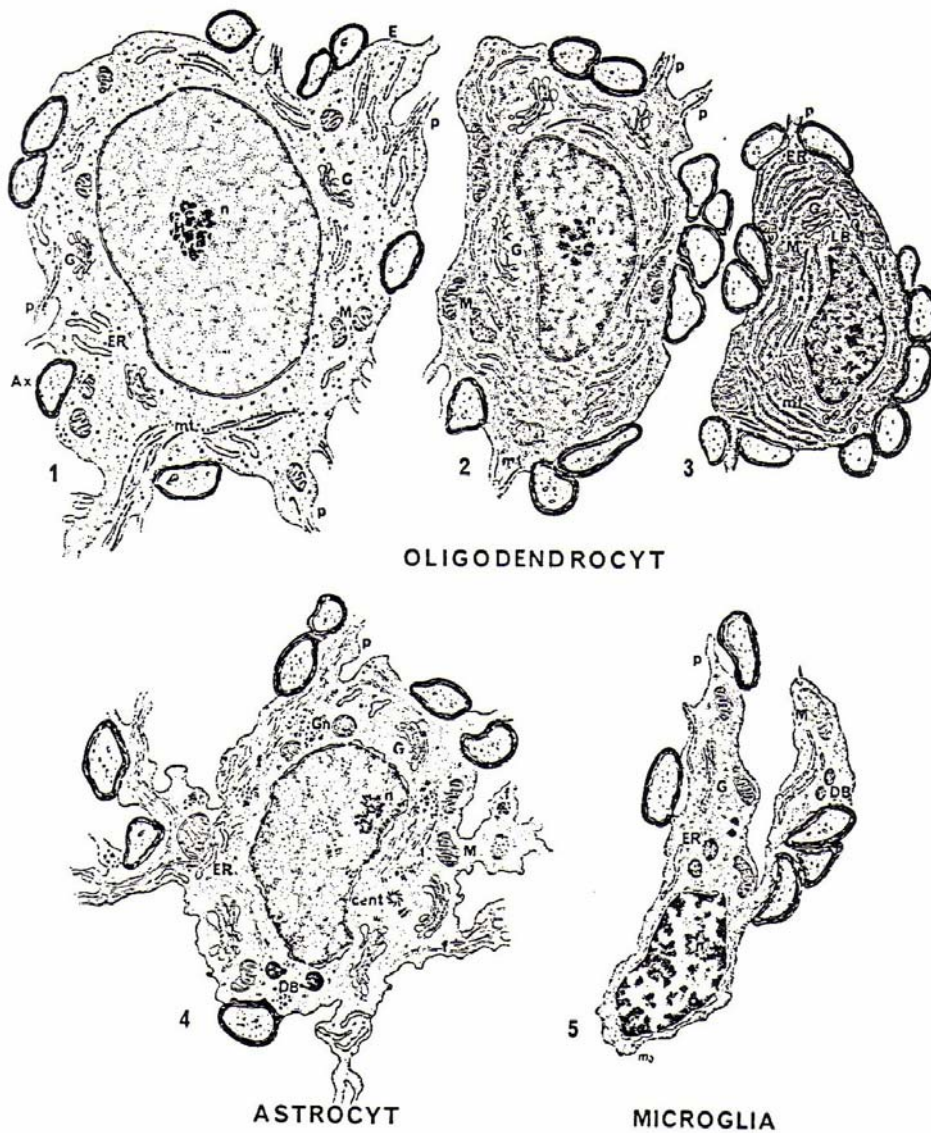
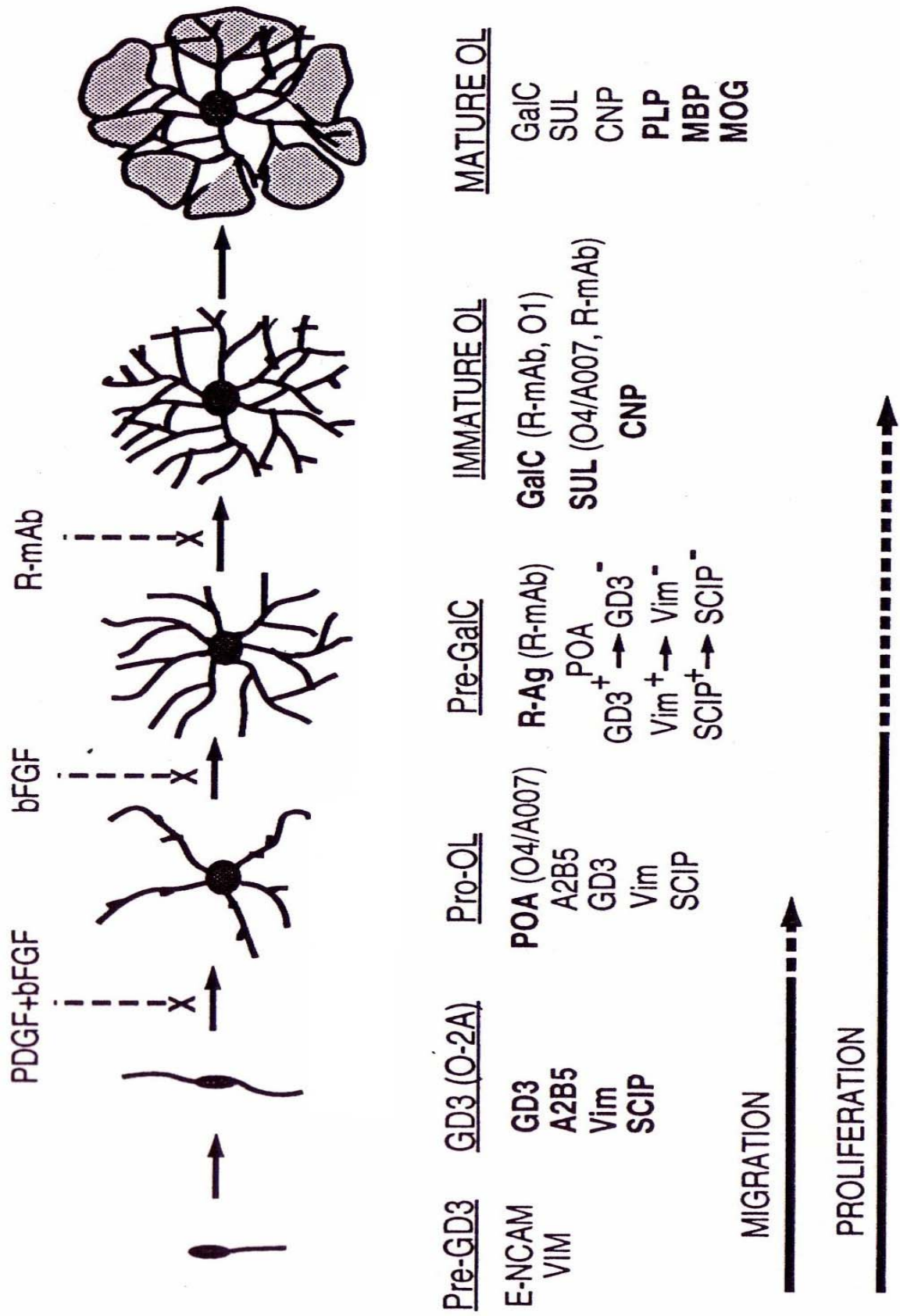


Abbildung 7: Morphologie der drei Oligodendrozytenformen nach Mori und Leblond, 1970 [162]: 1. heller, 2. mittlerer, 3. dunkler Oligodendrozyt; im Vergleich dazu Astroglia und Mikroglia.

2.2. Marker der Differenzierung

Die exakte Unterscheidung der verschiedenen Differenzierungsstadien der Oligodendrozyten allein aufgrund von morphologischen Kriterien gestaltet sich schwierig. Genauere Aussagen ermöglicht die Bestimmung der bereits erwähnten biochemischen Marker, die sich nur in einem begrenzten Zeitraum auf, bzw. in den Zellen nachweisen lassen und die (mehr oder weniger) spezifisch für ein bestimmtes Differenzierungsstadium sind. Die Charakterisierung dieser Marker mit Hilfe spezifischer Antikörper hat ein wesentlich genaueres Bild vom Ablauf der Reifung von der Precursor-Zelle hin zum reifen, myelinisierenden Oligodendrozyten ergeben. Einige von diesen Markermolekülen treten durchaus auch auf anderen Zelltypen auf, aber ihr Nachweis im Zusammenhang mit anderen, gleichzeitig nachweisbaren Komponenten sowie dem Migrations- und Mitosestatus, ergibt dann doch ein einzigartiges und zellspezifisches Muster, das die Identifizierung einer bestimmten Zellart und ihres Reifegrades ermöglicht [24].

Nachfolgende Abbildung 8: Schematische Darstellung der Entwicklung der Oligodendrozyten-Zelllinie; die gebräuchlichsten Marker sind unter dem jeweiligen Differenzierungsstadium aufgeführt (fett gedruckt: erstmaliges Auftreten, in Klammern: verwendete mAk). Ebenfalls dargestellt sind drei mögliche, reversible Blockierungen der Progression. Nach Pfeiffer et al., 1993 [188]. Abkürzungen siehe Glossar.



2.2.1. Marker der Vorläuferzellen („Precursor“) und der unreifen Oligodendrozyten

Nestin: Nestin gehört zu den sog. Intermediär-Filament-Proteinen, die mit den Neurofilamenten eng verwandt sind. Es kann mit dem mAk Rat-401 in neuroepithelialen Stammzellen, von denen sich auch der Name Nestin (*neuroepitheliale Stammzelle*) herleitet, nachgewiesen werden und unterscheidet diese frühen Stammzellen von anderen, weiter differenzierten Zellen im Neuralrohr [132]. Gallo und Armstrong [89] konnten zeigen, dass frühe Oligodendrozyten-Vorläuferzellen das Protein in hohem Maße exprimieren, reife Oligodendrozyten hingegen nur in geringen Mengen. Auch in Radialglia und unreifen Bergmann-Fasern im Kleinhirn ist es nachzuweisen. Nestin scheint nach diesen Erkenntnissen ein Intermediärfilament zu sein, das bei der Gliogenese eine wichtige Rolle spielt.

Proteolipidprotein (PLP)/DM-20: Die Splicing-Variante DM-20 des PLP bzw. ihre mRNA kann mittels RT-PCR und in-situ-Hybridisation schon während eines sehr frühen Entwicklungsstadiums des Gehirns, vor Beginn der Myelinisierung, nachgewiesen werden [187;238]. Dickinson et al. [65] konnten Transkripte der DM-20-Isoform des PLP-Gens zunächst in der ventralen Ventrikularzone des embryonalen Neuralrohres nachweisen. Nachfolgend verbreiteten sich die DM-20-positiven Zellen über die weiße Substanz. Zum Zeitpunkt des ersten Auftretens der DM-20+ Zellen waren noch keine reifen Oligodendrozyten bzw. Myelinscheiden zu erkennen. Durch den Nachweis von anderen Zelllinienspezifischen Markern, wie dem PDGFR- α oder dem mAk O4, konnten diese Zellen als Oligodendrozyten-Vorläufer identifiziert werden.

Platelet-derived Growth Factor α -Rezeptor (PDGFR- α): Transkripte des PDGFR- α , eines Rezeptors für den wichtigen Wachstumsfaktor in der

Entwicklung der Oligodendrozyten (siehe 2.3.1.), dienen ebenfalls als sehr spezifische Marker bei der Untersuchung von deren Zelldifferenzierung. Hall et al. [104] kamen bei ihren Untersuchungen zu der Erkenntnis, dass PDGFR- α -positive Zellen im embryonalen ZNS Oligodendrozyten-Vorläufer sind. Wurden diese Zellen isoliert und *in vitro* unter entsprechenden Bedingungen weiter kultiviert, so entwickelten sie sich ausnahmslos zu Oligodendrozyten. Spassky et al. [229] stellten fest, dass dieser Marker bereits sehr früh, d.h. im Stadium der Precursor-Zellen, im ZNS nachweisbar ist. Dabei machten sie die Beobachtung, dass DM-20+ Zellen und PDGFR- α + Zellen zwar in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander auftraten, dass aber nie beide Marker gleichzeitig von einer Zelle exprimiert wurden. Es stellt sich deshalb die Frage, ob nicht eventuell unterschiedliche Zelllinien mit verschiedener Oberflächenstruktur nebeneinander existieren, die dann möglicherweise auch unterschiedlich auf Wachstums- bzw. Differenzierungsfaktoren reagieren.

PSA-NCAM: Die im Embryonalstadium auftretende, polysialylierte Form des neuronalen Zelladhäsionsmoleküls (NCAM), ist bereits in einer sehr frühen Phase der Oligodendrozyten-Entwicklung, dem Pre-GD3-Stadium (siehe 2.1.1.), nachzuweisen. Grinspan et al. [101] wiesen nach, dass die Zellen diese embryonale Form des NCAM bereits exprimierten, bevor sie mit Anti-Gangliosid-3-AK (Anti-GD3) identifiziert werden konnten. Sie zeigten darüber hinaus, dass dieses Oberflächenmolekül funktionelle Bedeutung für deren Wanderung hat, da Zellen, auf denen man die Expression experimentell verhindert hatte, ihre Motilität verloren (siehe auch 3.3.).

Gangliosid GD3: Das Auftreten des Gangliosids GD3 markiert in der Differenzierungskaskade der Oligodendrozyten – zumindest *in vitro* – das Stadium des O-2A-Progenitors. Es erweist sich in Zellkulturen als sehr geeigneter Marker, da es in hohem Maße von den Oligodendrozyten-Progenitoren exprimiert

wird. Zu seinem Nachweis werden zwei unterschiedliche Antikörper eingesetzt: R24 und LB1 [57;198]. Die GD3-Expression nimmt mit zunehmendem Reifegrad der Zellen ab und verschwindet schließlich im sog. Pre-GalC-Stadium (siehe 2.1.1.). Beim Einsatz von GD3 als Marker-Molekül muss allerdings beachtet werden, dass es nicht spezifisch für Oligodendrozyten ist. Es wird während der Entwicklung von mehreren Zelltypen im ZNS in unterschiedlichem Ausmaß exprimiert: von unreifen neuroektodermalen Zellen, amöboider Mikroglia sowie Subpopulationen von Neuronen und Astrozyten. Auch im adulten ZNS ist es noch in geringem Maße nachweisbar, da hier noch in einigen Neuronen, Mikroglia und reaktiven Astrozyten GD3-Expression stattfindet [97].

Monoklonaler Antikörper A2B5 (mAk A2B5): Mit Hilfe des mAk A2B5 lassen sich mehrere Ganglioside nachweisen, die bisher noch nicht alle näher charakterisiert wurden [85]. In vivo werden diese Ganglioside sowohl von Neuronen als auch von Gliazellen exprimiert, d.h. auch die Reaktion mit mAk A2B5 kann nicht als zellspezifisch für die Oligodendrozyten-Linie angesehen werden. In Zellkulturen kann der Antikörper jedoch sehr gut verwendet werden um die Reifung von Oligodendrozyten-Vorläufern zu verfolgen. Die Reaktion mit mAk A2B5 beginnt im O-2A-Stadium und hält bis zum Prä-Oligodendrozyten (Pro-Oligodendroblasten) an. Die Reaktionspartner hier sind bekannt; es handelt sich hauptsächlich um das Gangliosid GT3 und seine O-azetylierte Form, die beide im Zuge der Differenzierung zu reifen Oligodendrozyten herunterreguliert werden [80]. Dass sich aus A2B5+-Zellen Oligodendrozyten entwickeln, konnten Fok-Seang und Miller [83] nachweisen, indem sie gezielt diese Zellen aus ihren Kulturen entfernten. In den so behandelten Zellkulturen konnte keine Oligodendrozyten-Entwicklung nachgewiesen werden.

Proteoglykan NG2: Das Proteoglykan NG2 ist ein in die Zellmembran integriertes Chondroitinsulfat-Proteoglykan. Es wird sowohl in vitro als auch in

vivo im sich entwickelnden ZNS in Nachbarschaft zum PDGFR- α auf Oligodendrozyten-Progenitoren und Prä-Oligodendrozyten exprimiert. Es fanden sich auch Hinweise darauf, dass die gleichzeitige Expression der beiden Antigene auf der Zelloberfläche wichtig ist für die Fähigkeit der Zellen auf die Stimulation durch PDGF zu reagieren [171]. Mit der Differenzierung zur reifen Zellform werden sowohl NG2 als auch PDGFR- α herunterreguliert. Nishiyama et al. [170] konnten allerdings im adulten ZNS eine Zellpopulation entdecken, die ebenfalls beide Moleküle aufwies. Diese Zellen weisen aber keine zellspezifischen Antigene von reifen Oligodendrozyten, Astrozyten, Mikroglia oder Neuronen auf. Sie stellen wohl eine gesonderte, dynamische Glia-Zellpopulation dar, die als Reaktion auf bestimmte Stimuli aus der Umgebung, wie Entzündung oder Demyelinisierung, morphologische Veränderungen durchlaufen.

Monoklonale Antikörper O4, O1 und R (mAk O4, O1, R): Die monoklonalen Antikörper O4, O1 und R reagieren mit den entsprechenden Antigenen auf der Oberfläche von Oligodendrozyten-Vorläuferzellen. Bansal et al. [13] konnten hierbei nachweisen, dass die mAk teilweise an die gleichen Antigene binden, dass also eine Kreuzreaktivität vorliegt. Die Reaktionspartner für O1 sind Galaktocerebrosid, Monogalaktosyl-Diglycerid und Psychosine. Der mAk R [205] bindet ebenfalls an Galaktocerebrosid, Monogalaktosyl-Diglycerid und Psychosine, darüber hinaus aber auch noch an Sulfatide und Seminolipide. Für O4 lässt sich eine Reaktion mit Sulfatiden, Seminolipiden sowie in geringerem Maße mit Cholesterol beobachten. Außerdem konnte ein weiteres Antigen für den mAk O4 als Pro-Oligodendroblasten-Antigen (POA) identifiziert werden [12], ein Glykolipid, das erstmalig auf Prä-Oligodendrozyten (= Pro-Oligodendroblast) auftritt. Diese sind somit die ersten O4+ Oligodendrozyten-Vorläufer. Dieses Reaktionsverhalten wird im weiteren Verlauf der Differenzierung beibehalten, d.h. auch ausgereifte, myelinisierende Oligodendrozyten zeigen noch O4-Positivität [13]. Zu beachten ist der bereits erwähnte Unterschied im Auftreten der

O4-Reaktivität zwischen Vögeln und Nagern [175] (siehe 1.4.). In der Pre-GalC-Phase erwerben die Zellen die Reaktivität mit dem mAk R, bevor sie schließlich als unreife Oligodendrozyten auch O1-positiv werden. Auch die Bindung dieser beiden Marker-Ak wird aufgrund der Reaktion mit Galaktocerebroside bis ins Stadium des ausgereiften Oligodendrozyten beibehalten.

Basische Helix-Loop-Helix-Proteine Olig1 und Olig 2: Neuere Studien haben gezeigt, dass die beiden basischen Helix-Loop-Helix-Proteine Olig 1 und Olig 2 möglicherweise in der frühen Phase der Oligodendrozyten-Differenzierung eine Rolle spielen. Die Hochregulation des Olig 1-Gens bewirkte in Kulturen von neuronalen Stammzellen eine deutliche Zunahme der Entwicklung von Oligodendrozyten [10]. Zhou et al. [267] gelang es, diese zwei Transkriptionsfaktoren sowohl in Zonen des Neuroepithels nachzuweisen, die als Ursprungsorte für Oligodendrozyten-Vorläufer gelten, als auch in den Precursor-Zellen selbst. Die Expression von Olig 2 tritt sogar einige Tage vor PDGFR- α auf, dem bisher frühesten bekannten Marker. Olig 1 und 2 sind damit nach heutigem Stand die Markermoleküle, mit denen sich die Oligodendrozyten-Precursoren als erstes erkennen lassen [140].

Sox-10-Protein: Die Sox-Proteine, die aufgrund ihrer DNA-bindenden Domäne Ähnlichkeit mit den high-mobility-group-Proteinen besitzen, sind nach jüngeren Studien ebenfalls in Oligodendrozyten bzw. deren Precursoren nachweisbar. Kuhlbrodt et al. [126] konnten das Sox-10-Protein, das auch im peripheren Nervensystem auftritt, im ZNS in Glia-Precursor-Zellen sowie später in Oligodendrozyten nachweisen. Sox-10 steht dabei in einem funktionellen Zusammenhang mit den vorher beschriebenen Olig-Genen. Gezeigt werden konnte dies anhand der Tatsache, dass die ektopische Expression von Olig 2 zu einer Hochregulation von Sox-10 führt [267]. Sox-10 tritt zeitgleich mit Olig 1

und 2 in Erscheinung und könnte zusammen mit diesen einen Einfluss auf die Expression von PDGFR- α haben [256].

2.2.2. Marker der reifen Oligodendrozyten / Myelin-Marker

2.2.2.1. Myelinlipide

Die Lipide, die in Oligodendrozyten und im Myelin auftreten, kommen in anderen Zellmembranen des Körpers ebenfalls vor; das Mengenverhältnis in dem sie zueinander stehen ist hier jedoch unterschiedlich. Bei allen Säugetieren enthält Myelin Cholesterin, Phospholipide und Glykolipide in einem molaren Verhältnis von 4:3:2 bis 4:4:2. Cholesterin und die verschiedenen Phospholipide sind nicht zellspezifisch und sind daher auch als Markermoleküle ungeeignet, dagegen finden die Glykosphingolipide, und hier insbesondere die Galaktocerebroside und ihre sulfatierten Derivate als Marker Anwendung [24;203].

Glykolipide: Auf reifen Oligodendrozyten und deren Myelinmembranen lassen sich spezifische Glykolipide nachweisen. Diese Lipidverbindungen machen einen Großteil des Myelins aus, nämlich ca. 32 %. Dabei handelt es sich um Galaktocerebroside (GalC) und ihre sulfatierten Formen (Sulfogalaktocerebroside oder Sulfatide). Sie erscheinen bereits während des Differenzierungsprozesses auf den unreifen Zellen und bleiben bis ins Stadium der reifen, myelinisierenden Zelle nachweisbar, und zwar sowohl in vivo als auch in vitro [188;202]. Zum Nachweis werden monoklonale Antikörper verwendet: O1 ist dabei der meist verwendete, daneben auch O4 und der mAk R (Reaktionspartner siehe 2.2.1.). Die Spezifität dieser Ak ist dabei nicht so hoch wie anfangs angenommen und dies muss bei den Untersuchungen berücksichtigt werden. In jüngerer Zeit durchgeführte Untersuchungen an Mäusen, denen das Enzym für die Synthese von GalC und seinen Sulfaten fehlt, machten deren Stellenwert für die normale

Myelinfunktion klarer. Die Tiere bildeten zwar Myelin aus, dies wies allerdings im Elektronenmikroskop deutliche Unterschiede in der Ultrastruktur auf. Unter anderem zeigten sich Veränderungen in der paranodalen Region. Die normalerweise vorhandene enge Verbindung zwischen den seitlichen Zytoplasmaringen (paranodale Loops) und der axonalen Membran erschien gelockert, was zu einem kompletten Verlust der sonst hier sichtbaren Querstreifung führte. Außerdem fanden sich überlappend myelinisierte Segmente ebenso wie unregelmäßige Lücken zwischen den Letzteren. Die daraus resultierenden pathophysiologischen Folgen waren gestörte Erregungsleitung, Tremor und progressive Paralyse. Die meisten Tiere verendeten nach Abschluss der Myelinisierung im Alter von etwa vier bis sechs Wochen. Die Ergebnisse dieser Studien machen deutlich, dass GalC und seine sulfatierten Derivate für die normale Ausbildung der Ranvier'schen Schnürringe sowie der paranodalen Strukturen unerlässlich sind und dass sie darüber hinaus wichtige Funktionen in den Axon-Glia-Interaktionen haben [67;192].

2.2.2.2. Oligodendrozyten-/Myelinproteine

Die Myelinproteine machen 30 % der Trockensubstanz des Myelins aus und sind zum größten Teil spezifisch für Myelin und Oligodendrozyten. Die beiden Hauptvertreter dieser Gruppe, basisches Myelinprotein (MBP) und Proteolipidprotein (PLP) mit seiner Isoform DM-20, haben ein niedriges Molekulargewicht und machen zusammen 80 % des gesamten Myelinproteins aus. Eine zweite Gruppe sind die sog. Wolfgram-Proteine, zu denen unter anderem die zyklische Nukleotid-Phosphodiesterase (CNP) gehört. Sie sind unlöslich in Chloroform-Methanol-Gemisch und wurden 1966 erstmals beschrieben. Außerdem treten auch noch Glykoproteine, zu denen z.B. myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG) und Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) gehören, und andere Proteine, z.T. mit enzymatischer Aktivität, auf. Der

Großteil dieser Eiweiße sind als Markermoleküle geeignet und finden nach Synthese der passenden Antikörper auch Verwendung für den Oligodendrozyten- bzw. Myelinnachweis [24;200].

Proteolipidprotein (PLP): PLP macht mit ca. 50 % den größten Anteil an der Proteinfraction im zentralen Myelin aus. Es tritt in zwei Isoformen auf: einer 25-kDa-Form, die als PLP bezeichnet wird, sowie der Splicing-Variante DM-20 (siehe 2.2.1.) mit 20 kDa (kiloDalton), die im adulten ZNS noch 10 – 20 % des PLP ausmacht. Das PLP-Gen ist auf dem X-Chromosom lokalisiert und besteht aus sieben Exons; ein Teil von Exon 3 wird bei der DM-20-Variante durch alternatives Splicing herausgeschnitten [168;255]. Im Jahr 1982 wurde von Stoffel und Lees [232] die Aminosäuresequenz des PLP ermittelt, die interessanterweise zwischen Mensch, Ratte und Maus keinerlei Unterschiede aufweist [66;131;142]. Exprimiert wird PLP von reifen, nicht-myelinisierenden Oligodendrozyten sowie von den vollständig ausgereiften, und zwar sowohl im Zytoplasma als auch in den Membranen der Myelinscheiden. Nach Abschluss der aktiven Myelinproduktion nimmt der intrazytoplasmatische Gehalt allerdings stark ab, so dass ein Nachweis schwierig wird. Im Bereich der Myelinscheiden ist PLP innerhalb der Zellmembran lokalisiert – es ist ein sog. integrales Membranprotein, bestehend aus vier α -Helices, welche die Membran durchziehen, sowie zwei extra- und drei intrazytoplasmatischen Domänen [193]. Die Funktion des PLP, die sich auch aus seiner Lage und Struktur ergibt, liegt wohl im Bereich der Membranstabilisierung nach Bildung des kompakten Myelins. Klugmann et al. [122] untersuchten dazu Mäuse mit einer Mutation des PLP-Gens, die unfähig zur Produktion von PLP und DM-20 waren. Dabei stellten sie fest, dass diese trotzdem normales Myelin ausbildeten, welches aber eine deutlich reduzierte physikalische Stabilität aufwies.

Basisches Myelinprotein (MBP): MBP ist eines der Hauptproteine im ZNS-Myelin, bzw. bildet eine Familie von Hauptproteinen, die sich aus vielen verschiedenen Isoformen mit unterschiedlichem Molekulargewicht zusammensetzt. Sequenziert wurden die Hauptformen bereits im Jahre 1971 von Eylar [79] aus bovinem, bzw. Carnegie [51] aus humanem Gehirnmaterial. Mittels SDS-PAGE (Natrium-Dodecyl-Sulfat Polyacrylamidgelelektrophorese) können die Isoformen aufgetrennt werden. Die Hauptproteine beim Menschen haben dabei Molekulargewichte von 21,5, 20,2, 18,5 und 17,2 kDa, bei der Maus sind es 21,5, 18,5, 17 und 14 kDa [47]. Die Isoformen entstehen durch alternatives Splicing aus dem MBP-Gen, das aus sieben Exons besteht [61;211]. Das MBP-Gen ist dabei Bestandteil einer größeren Transkriptionseinheit, die als Golli-MBP-Gen bekannt ist und zehn Exons beinhaltet. „Golli“ steht für „gene expressed in the oligodendrocyte lineage“ [48]. Die erste Expression des MBP-Gens konnte im Rückenmark der Maus schon am Tag 14,5 der Embryonalentwicklung (E 14,5) festgestellt werden [187]. MBP ist in unreifen Oligodendrozyten im gesamten Zytoplasma zu finden und wird von dort auch aktiv in den Kern transportiert. Diese Beobachtung weist auf eine regulatorische Funktion im Ablauf des Myelinisierungsprogrammes hin [184]. Nach Beginn der Myelinproduktion verbreitet sich MBP in den Zellfortsätzen auf der zytoplasmatischen Seite der Zellmembran. Dort hat es wichtige Aufgaben bei der Bildung und Stabilisierung der kompakten Myelinscheiden, was durch Interaktion mit Membranphospholipiden sowie MBP-Molekülen der gegenüberliegenden Seite erreicht wird [188].

Zyklische Nukleotidphosphodiesterase (CNP): Das Enzym CNP ist auch außerhalb des ZNS in vielen Geweben nachweisbar, allerdings in deutlich geringerer Konzentration als im Nervensystem, wo es 4 % der Myelinproteinfraktion ausmacht. Es kommt in zwei Isoformen mit 46 (CNP 1) bzw. 48 kDa (CNP 2) vor und wird von einem Gen bestehend aus vier Exons

codiert [230]. Während der Oligodendrozyten-Entwicklung wird CNP als erstes der Myelinproteine exprimiert und da es im ZNS ausschließlich auf der Oligodendroglia vorkommt, kann es gut als Marker für die frühen Stadien verwendet werden [207]. Innerhalb der Oligodendrozyten kann CNP sowohl im Zellsoma als auch in den Fortsätzen nachgewiesen werden. In kompakten Myelinscheiden allerdings ist es nicht mehr zu finden [239]. Unklarheit herrscht bis heute über die genaue Aufgabe des Enzyms. Da innerhalb des Nervengewebes kein Substrat für seine enzymatische Aktivität vorhanden ist, scheidet eine katalytische Funktion aus. Untersuchungen von Gravel et al. [100] an transgenen Mäusen, die das Protein überexprimieren, ergaben aber Hinweise darauf, dass CNP zum einen eine regulatorische Rolle hat, da bei diesen Tieren die Oligodendrozyten vorzeitig ausdifferenzierten. Zum anderen scheint es bei der Myelinbildung einen wichtigen Part zu übernehmen, denn die Mäuse wiesen deutliche Veränderungen im Myelin auf. Es fanden sich darin Vakuolen, die Bildung des kompakten Myelins war gestört und überzählige Myelinscheiden wurden ausgebildet.

Myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG): MAG ist quantitativ betrachtet ein kleiner Bestandteil des Myelinproteins; es macht nur 1 % davon aus. Das MAG-Gen, bestehend aus 13 Exons konnte sowohl beim Menschen als auch bei der Maus lokalisiert werden [21]. MAG tritt in zwei Isoformen auf: L(large)-MAG mit 72 kDa und S(small)-MAG mit 67 kDa. Diese Molekulargewichte geben den Zustand vor der Glykosylierung wieder; danach beträgt die Masse ca. 100 kDa, da der Kohlenhydratanteil ca. 30 % ausmacht. Die MAG-Moleküle bestehen aus einer membrandurchspannenden Domäne, einem intra- sowie einem extrazellulären Anteil. Der Letztere besitzt eine auffallende Ähnlichkeit mit Immunglobulinen, den extrazellulär gelegenen Partien des NCAM (neuronales Zelladhäsionsmolekül) sowie anderen Mitgliedern der Immunglobulin-Gen-Superfamilie [217].

Die Funktion von MAG wurde an MAG-knock-out Mäusen untersucht [136]. Dabei fanden Li et al. [136], dass diese Tiere in der Lage waren, fast normales ZNS-Myelin auszubilden. Es fanden sich Defekte bei der Ausbildung des periaxonalen Zytoplasmasaumes, der in den meisten Fällen ganz fehlte und zum Teil waren Zellorganellen im Bereich der Myelinscheiden zu finden, was auf eine Störung bei der Bildung des kompakten Myelins hinweist. Außerdem waren einige Axone mehrfach oder übermäßig myelinisiert worden – MAG hilft offenbar den Oligodendrozyten bereits myelinisierte Nervenfortsätze zu erkennen [135]. Eine weitere wichtige Rolle des MAG ist die Kontaktaufnahme zwischen Axon und Oligodendrozyt [82;153]. Ein Hinweis darauf ergibt sich bereits aus der Lokalisation innerhalb der Zelle. MAG findet sich in myelinisierenden Zellen ausschließlich in der periaxonalen Membran im Bereich der Internodien. Vor Beginn der Myelinisierung ist es auch noch im Zytoplasma der Oligodendrozyten nachweisbar [231]. Das Glykoprotein fungiert als Rezeptor für bestimmte Zelloberflächenmoleküle der Neuriten. Yang et al. [261] konnten anhand der Primärstruktur und in-vitro Untersuchungen das MAG den Sialinsäure-bindenden Lektinen zuordnen. Als Liganden identifizierten sie verschiedene Ganglioside, die auf Neuronen exprimiert werden. Umemori et al. [244] konnten darüber hinaus zeigen, dass die Bindung zwischen L-MAG und einem neuronalen Liganden im Zusammenhang mit der Aktivierung der Fyn-Tyrosin-Kinase steht, einer Non-Rezeptor-Tyrosin-Kinase aus der Src-Familie, die in Oligodendrozyten nachweisbar ist. Sie zeigt ihre höchste Aktivität mit Beginn der Myelinisierung; Fyn-defiziente Mäuse weisen eine gestörte Myelinogenese auf. Auch Osterhout et al. [181] zeigten eine Verbindung zwischen der Fyn-Tyrosin-Kinase und der Myelinproduktion. Sie wiesen bereits eine sehr frühe Aktivität der Kinase in Oligodendrozyten-Progenitoren nach. Aus der experimentellen Blockade dieser Aktivität resultierte eine Reduktion der Zellfortsätze sowie der Myelinmembranen. Diese Resultate weisen auf einen Zusammenhang zwischen

MAG und den initialen Schritten der Myelinogenese hin, der über die Aktivierung der Fyn-Tyrosin-Kinase führt.

Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG): Der Anteil von MOG an der Proteinfraction des ZNS-Myelins beträgt nur 0,05 %. Es wurde erstmals durch einen polyklonalen Antikörper, der gegen das sog. M2-Antigen gerichtet war, identifiziert. Die parenterale Applikation dieses Antigens induzierte beim Meerschweinchen eine Autoimmunenzephalitis mit Demyelinisierung. Erst später erkannte man es als ZNS-spezifischen Myelin-Bestandteil [128;129]. Das gereinigte MOG-Protein hat ein Molekulargewicht von 25 kDa; es tritt nach Glykosylierung aber offenbar als Dimer mit 52 – 54 kDa in Erscheinung [5]. Das Gen, bestehend aus acht Exons, konnte beim Menschen und bei der Maus identifiziert werden [189]. MOG wird von myelinisierenden Oligodendrozyten während der späten Phase der Myelinogenese exprimiert und ist auf deren Zelloberfläche, sowie auf der äußersten Lamelle der ausgebildeten Myelinscheide nachweisbar. Es besitzt zwei potentielle Transmembran-Domänen und einen extrazellulär gelegenen Anteil, der in seiner Struktur große Ähnlichkeit mit der variablen Domäne von Immunglobulinen besitzt [62;189]. MOG findet neben seiner Funktion als Oligodendrozyten-Marker Anwendung in der Untersuchung von demyelinisierenden Erkrankungen. Es ist als einziges ZNS-Protein in der Lage, im Tiermodell eine Entzündungsreaktion einschließlich damit einhergehender Antikörper-vermittelter Demyelinisierung, die sog. experimentelle Autoimmunenzephalitis (EAE) hervorzurufen [6].

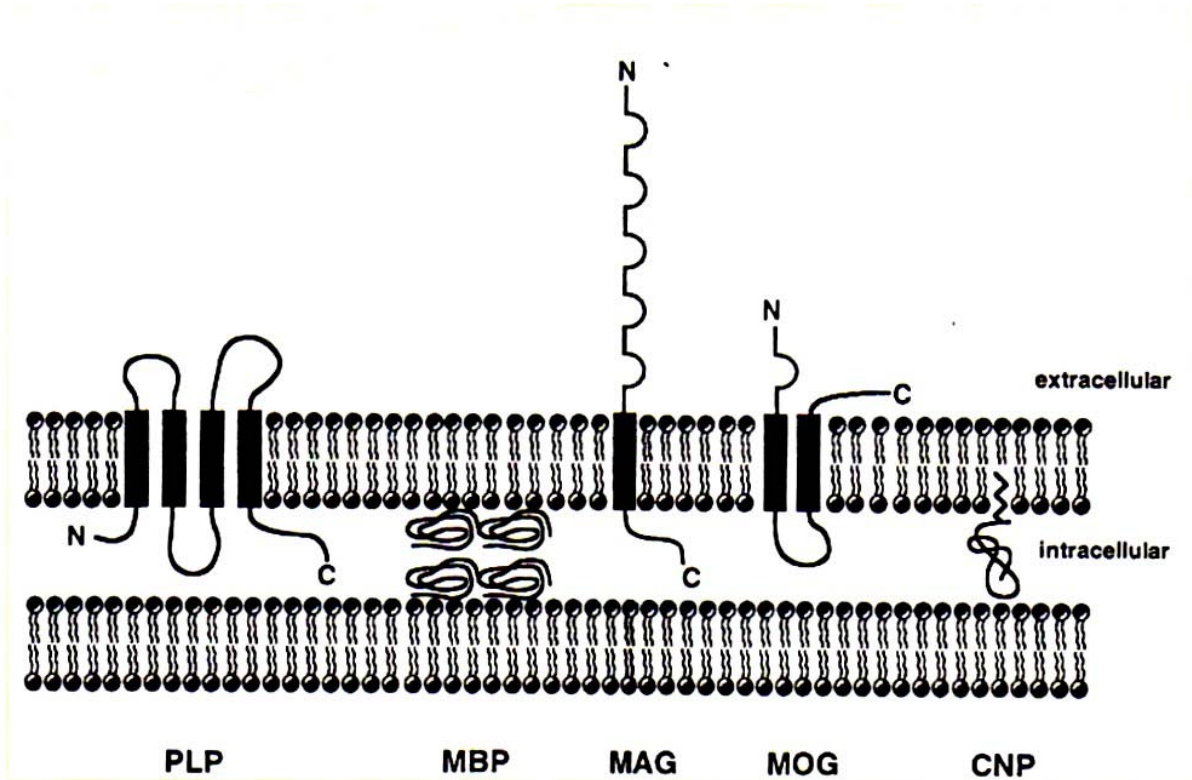


Abbildung 9: Schematische Darstellung der wichtigsten ZNS-Myelinproteine und ihrer Lokalisation (aus Pfeiffer et al., 1993 [188]).

Kleine basische Proteine:

-Basisches Myelin-assoziiertes Oligodendrozytenprotein (MOBP): Yamamoto et al. [259] entdeckten 1994 das MOBP. Es wird von myelinisierenden Oligodendrozyten in drei Isoformen mit 8,2, 9,7 und 11,7 kDa exprimiert und ist zunächst in den Zellkörpern, später im gesamten kompakten Myelin nachweisbar. Große Ähnlichkeit ist zu MBP vorhanden, was die Vermutung nahe legt, dass es auch ähnliche Aufgaben bei der Ausbildung des kompakten Myelins übernimmt. Im Gegensatz zu MBP kommt MOBP ausschließlich im ZNS, nicht aber im peripheren Nervensystem (PNS) vor, und wird deutlich später exprimiert [109;161].

-P 2: P2, ein basisches Protein von 13,5 kDa, das hauptsächlich im PNS auftritt, wurde von Trapp et al. [240] auch im ZNS nachgewiesen. Hierbei fanden sie große Unterschiede hinsichtlich der Verteilung. Das meiste P2-Protein ist im Rückenmark zu finden, nur sehr geringe Konzentrationen hingegen im Großhirn. Darüber hinaus sind Speziesunterschiede vorhanden. Während beim Kaninchen und Menschen das P2 gefunden wurde, war dies weder bei Ratten noch bei Mäusen möglich.

Familie der Tetraspan-Proteine: Die Tetraspan-Familie umfasst Proteine mit vier intramembranös gelegenen α -Helices. Dazu gehören das PLP, das periphere Myelinprotein 22 (PMP22), sowie weitere Vertreter, die in Oligodendrozyten vorkommen und nachfolgend kurz vorgestellt werden.

-Oligodendrozytenspezifisches Protein (OSP): OSP rangiert mengenmäßig nach PLP/DM20 und MBP an dritter Stelle unter den ZNS-Myelinproteinen – es macht 7 % des Proteinanteils aus. Seine Verteilung entspricht der von MBP, während es in seiner Zusammensetzung große Ähnlichkeit mit dem peripheren Myelinprotein 22 (PMP22) besitzt [38]. Morita et al. [163] konnten OSP als Tight-Junction-Protein Claudin-11 identifizieren, das parallel angeordnete Reihen dieser Zellverbindungen innerhalb der Myelinscheiden ausbildet.

-Connexine 32 und 45 (Cx32 und 45): Die Connexine 32 und 45 gehören zur Familie der Gap-Junction-Proteine und konnten in Oligodendrozyten und dem von ihnen gebildeten Myelin nachgewiesen werden. Die Vertreter Cx 32 sowie Cx 45 wurden dabei in den Zellkörpern, im proximalen Bereich der Zellfortsätze sowie entlang myelinisierter Nervenfasern mittels Immunfluoreszenz entdeckt. Sie bildeten dort gap junctions zwischen Oligodendrozyten sowie zwischen diesen und Astrozyten aus [64;127;137].

-Tetraspan-2: Birling et al. [30] identifizierten ein neues Mitglied der Tetraspan-Protein-Familie: Tetraspan-2. Sie wiesen es in einer Oligodendrozyten-Zelllinie nach, wo es bei Ratten einige Tage postnatal erstmalig auftritt und anschließend eine starke Hochregulation erfährt. Die ermittelten Daten weisen darauf hin, dass Tetraspan-2 wahrscheinlich eine Rolle in der Signalübermittlung innerhalb der Oligodendrozyten am Ende der Differenzierung spielt und möglicherweise auch an der Stabilisierung der Myelinscheide beteiligt ist.

Sonstige Myelinproteine:

-Oligodendrozyten-Myelin Glykoprotein (OMgp): OMgp ist ein glykosyliertes Protein mit unbekannter Funktion, das zuerst im ZNS des Menschen identifiziert werden konnte. Zunächst als myelinspezifisch angesehen, konnte es mittlerweile im ZNS von Mäusen auch auf anderen Zellen, wie Pyramidenzellen des Hippocampus, Purkinje-Zellen des Kleinhirns und Motoneuronen im Hirnstamm oder in Vorderhorn-Motoneuronen des Rückenmarkes, nachgewiesen werden [102]. Im Myelin ist die Verteilung von OMgp auf die paranodale Region beschränkt. Seine genomische Lokalisation bei Mensch und Maus als auch die Aminosäuresequenz konnten ermittelt werden [154;155].

-Myelin/Oligodendrozytenspezifisches Protein (MOSP): MOSP ist ein ZNS-spezifisches Zelloberflächenprotein, das auf Oligodendrozyten und Myelinscheiden nachzuweisen ist. Sein Molekulargewicht wurde mit 48 kDa bestimmt [69].

-RIP-Antigen: Das RIP-Antigen wird durch einen monoklonalen Antikörper, der gegen Oligodendroglia aus dem Bulbus olfactorius der Ratte entwickelt wurde, erkannt [86]. Der Antikörper reagiert mit einem unbekanntem Epitop auf der

Oberfläche von Oligodendrozyten sowie ihren Fortsätzen. Er erwies sich in mehreren Studien als sehr spezifisch für Oligodendroglia [27].

-NI35/250-Proteine: Auf der Suche nach Ursachen für die Inhibition von Axonregeneration im ZNS konnten Caroni und Schwab zwei Protein-Fractionen von 35 und 250 kDa (NI-35 und NI-250) identifizieren [53]. Nach der Entwicklung von monoklonalen Antikörpern gegen die Proteine (IN-1-Ak und IN-2-Ak) konnten sie zeigen, dass sich diese an die Oberfläche von differenzierten Oligodendrozyten anlagerten [52]. GrandPre et al. [99] wiesen nach, dass nach Anwendung von IN-1-Antikörpern an experimentell durchtrennten Axonen im ZNS eine gewisse Regeneration ermöglicht wurde und identifizierten NI-250 als Mitglied der Reticulon-Familie.

-Transferrin: Das Eisentransportprotein Transferrin wird im ZNS von Oligodendrozyten und Epithelzellen des Plexus choroideus produziert [31]. Vor Etablierung der Blut-Hirn-Schranke werden die Gehirnzellen mit Transferrin aus der Leber versorgt, danach jedoch sind sie auf diese Quelle innerhalb des ZNS angewiesen. Über den Eisentransport hinaus beeinflusst Transferrin Wachstum und Überleben von Astrozyten und Neuronen. Oligodendrozyten scheinen damit also eine weitere wichtige Funktion im ZNS neben der Myelinproduktion zu haben [78].

-S100-Proteine: Bei Untersuchungen an den Kalzium- und Zink-bindenden Proteinen S100 stellten Rickmann und Wolff [208] fest, dass diese neben ihrem Hauptvorkommen in Astrozyten auch in einer kleinen Subpopulation von Oligodendrozyten nachweisbar sind. Diese wiesen Merkmale von aktiv myelinisierenden Zellen auf. Darüber hinaus entdeckten sie auch eine S100-Immunoreaktivität auf Teilen von Myelinscheiden. Das Auftreten von S100 in Oligodendrozyten scheint nach diesen Untersuchungsergebnissen im

Zusammenhang mit Zell-Turnover und Myelinreparatur im adulten ZNS zu stehen.

Enzyme:

-Carboanhydrase II (CAII) : Carboanhydrase II kommt als einziges von sieben CA-Isoenzymen im ZNS vor, und zwar in Oligodendrozyten. Es kann in allen Entwicklungsstadien dieser Zelllinie nachgewiesen werden, vom Precursor bis hin zur reifen Zelle [46]. Allerdings weisen auch andere Gliazellen, wie unreife Astrozyten, Radialglia und Mikroglia, das Enzym auf. Butt et al. [42] stellten bei Untersuchungen am Gehirn von Ratten fest, dass zwei biochemisch unterschiedliche Subtypen von reifen Oligodendrozyten existieren. Sie untersuchten die gleichzeitige Expression von RIP-Antigen und CAII. Dabei fanden sie RIP+ CAII+ Zellen, die eine Vielzahl von Myelinscheiden für dünne Axone bildeten. Demgegenüber standen RIP+ CAII- Zellen, die nur wenige großkalibrige Axone mit Myelin umhüllten.

-Glutamin-Synthetase: D'Amelio et al. [58] konnten in einer kleinen Oligodendrozyten-Subpopulation eine Immunoreaktivität bezüglich der Glutamin-Synthetase nachweisen. Dieses Enzym katalysiert die Umwandlung von Glutamat in Glutamin in der Anwesenheit von ATP und Ammonium. Sein Hauptvorkommen ist im Zytoplasma von Astrozyten. Bei dieser Untersuchung fand es sich aber auch in perineuronalen Oligodendrozyten in der grauen Substanz von Großhirn, Kleinhirn, Hirnstamm und Rückenmark, die wohl spezielle Funktionen übernehmen.

-UDP-Galaktose:Ceramid-Galaktosyl-Transferase (CGT): CGT katalysiert die Bildung von Galaktosylceramid aus Galaktose aus der UDP-Galaktose und einem Ceramid. Ihre Enzymaktivität konnte in Myelin nachgewiesen werden. Dabei

wird die Expression der CGT-Transkripte offenbar zeitlich geregelt und tritt parallel mit der von MBP auf. Schulte et al. [222] konnten zeigen, dass CGT im Groß- und Kleinhirn nur in den Schichten auftritt, in denen sich auch MBP-produzierende Oligodendrozyten finden. In geringen Mengen ist das Enzym im adulten ZNS auch in einigen Neuronen-Subtypen zu finden [220]. Die Bedeutung dieses Enzyms konnte durch Untersuchungen an CGT-knock-out Mäusen demonstriert werden. Coetzee et al. [55] sowie Bosio et al. [35] zeigten, dass diese mikroskopisch normale Myelinscheiden ausbildeten, die lediglich im Bereich des Rückenmarkes etwas dünner waren. Darin wurden GalC und seine sulfatierten Derivate durch Glukocerebrosid ersetzt, welches normalerweise nicht im Myelin vorkommt. Es resultierte eine deutlich verlangsamte Erregungsleitung und damit im Zusammenhang stehend ein generalisierter Tremor sowie Ataxie und progressive Paralyse mit meist letalem Ausgang. GalC und seine Sulfate sind offenbar essentiell für die normale Myelinfunktion und ein Mangel an dem Enzym, das ihre Produktion katalysiert, ist daher ein Letalfaktor.

Neben diesen erwähnten Enzymen lassen sich nach Isolierung des Myelins mittels Ultrazentrifugation noch viele andere darin nachweisen: Neuraminidasen, Cholesterinester-Hydrolasen, Enzyme, die Phospholipide synthetisieren oder katabolisieren, Proteasen, Protein-Kinasen und Phosphatasen [169].

2.3. Einflussfaktoren auf Differenzierung und Proliferation

Der Ablauf der Differenzierung sowie die Proliferation der Zelltypen wird von vielen Faktoren beeinflusst, die überwiegend von den Neuronen, aber auch von Astrozyten produziert werden. Dabei scheint es so zu sein, dass Proliferation und Differenzierung Prozesse sind, die sich zueinander antagonistisch verhalten, d.h. dass mitotisch hochaktive Zellen wenig Tendenz zeigen, sich weiter zu differenzieren, während bei Zellen, die gerade einen Differenzierungsschritt durchlaufen, weniger Zellteilungen zu beobachten sind [188]. Welches Programm

wann abläuft, wird durch die in der Umgebung der Zelle vorhandenen Einflussfaktoren bedingt, wobei die überwiegend auf in-vitro Studien basierenden Erkenntnisse nur schwierig auf in-vivo Bedingungen übertragbar sind, da hier oft eine Vielzahl an Faktoren gleichzeitig einwirken, die sich gegenseitig beeinflussen und im Zusammenspiel ganz andere Wirkungen erzielen können als bei alleinigem Auftreten [149]. Darüber hinaus muss auch betont werden, dass die an Zellkulturen von Nagern und Küken erzielten Ergebnisse nicht ohne weiteres auf das menschliche Gehirn übertragen werden können. Im Folgenden werden die bei der Proliferation und Differenzierung der Oligodendrozyten Einfluss nehmenden Faktoren im Einzelnen näher besprochen.

2.3.1. Wachstumsfaktoren

Platelet derived growth factor (PDGF): PDGF wird während der ZNS-Entwicklung von Typ1-Astrozyten sowie Neuronen produziert und ist ein Hauptregulator des Entwicklungsprozesses von Oligodendrozyten. Die Wirkung wird über den PDGF- α -Rezeptor (PDGFR- α) vermittelt, einer Zellmembran durchspannenden, monomeren Typ-3 Rezeptor-Tyrosin-Kinase, die eine extrazelluläre Domäne zur Bindung des PDGF aufweist. Die Bindung des Wachstumsfaktors führt zur Dimerisierung und Autophosphorylierung des Rezeptors und nachfolgend zur Phosphorylierung von fünf Tyrosinresten, die in der Nähe des intrazellulären katalytischen Zentrums liegen und ihrerseits wiederum als Andockstellen für Zielproteine dienen, die dann die Signalkaskade fortführen. Der PDGFR- α tritt im Stadium des Precursors und Progenitors auf und verschwindet bei den O4+-Zellen wieder von der Zelloberfläche [75]. Die rezeptorvermittelten Effekte lassen aber bereits vor dessen Verschwinden nach, was auf eine Blockade der intrazellulären Signalübermittlung zum Zellkern zurückzuführen ist [107]. PDGF wirkt auf die Oligodendrozyten-Vorläufer

mitogen [201], chemotaktisch, stimuliert die Motilität und bewirkt eine längere Überlebenszeit der Zellen [14;95]. Dies konnte gezeigt werden bei Mäusen mit einem Mangel an PDGF-A, bei denen eine deutlich gestörte Entwicklung der Oligodendrozyten mit reduzierter Anzahl von PDGFR- α -Progenitoren und reifen Zellen, sowie eine daraus resultierende gravierende Hypomyelinisierung auffiel [88]. Gleichzeitig verzögert PDGF das Fortschreiten des Differenzierungsprozesses [41].

Basischer Fibroblast growth factor (bFGF): Der basische FGF (auch als FGF2 bezeichnet) ist ein weiterer, v.a. auf die Oligodendrozyten-Progenitoren mitogen wirkender Faktor [70]. Die Wirkung erfolgt zum Einen indirekt, indem bFGF die Expression des PDGFR- α hochreguliert und somit die Empfänglichkeit der Oligodendrozyten-Vorläufer für PDGF verbessert und auch zeitlich verlängert [145]. In Zellkulturen kann unter bFGF-Einfluss sogar ein Rückschritt vom Prä-Oligodendrozyten in das Progenitor-Stadium erfolgen, wenn sich bFGF und PDGF gleichzeitig im Kulturmedium befinden [32]. Die Wirkung des bFGF ist allerdings abhängig von der Art der Rezeptoren an die er bindet, und deren Expression auf den Oligodendrozyten während der Embryogenese, die durch den Liganden selbst mit reguliert wird. So findet man den FGF-Rezeptor-1 in zunehmendem Maße je weiter die Entwicklung der Zelllinie fortschreitet. Die Bindung des bFGF an diese Rezeptorform bewirkt eine verlängerte Proliferationsphase und begünstigt die Migration v.a. von frühen Progenitoren. Dagegen wird FGF-Rezeptor-3 vor allem auf späten Progenitor-Zellen exprimiert und bewirkt hier bei Ligandenbindung Proliferation und gleichzeitige Differenzierungsverzögerung. Im reifen Oligodendrozyten findet sich schließlich v.a. der FGF-Rezeptor-2, über den in diesen Zellen die endgültige Ausdifferenzierung aber keine weitere Zellteilungsaktivität mehr vermittelt wird [11]. Die FGF-Rezeptoren entsprechen in ihrer Bauart den PDGF-Rezeptoren, d.h. sie sind ebenfalls monomere Rezeptor-Tyrosin-Kinasen, allerdings vom

Typ 4 mit extrazellulärer Bindungsstelle für den Liganden, einer Transmembrandomäne sowie einem intrazellulär gelegenen katalytischen Zentrum.

Insulin-like growth factor-I (IGF-I): IGF-I stimuliert die Proliferation sowohl von Oligodendrozyten-Precursorzellen als auch von O4+-Progenitor-Zellen [148] und verlängert die Überlebenszeit der genannten Zellen [14]. Ein Hinweis auf die Bedeutung dieses Wachstumsfaktors ergibt sich aus der Tatsache, dass er in der Subventrikularzone genau zur gleichen Zeit nachweisbar ist, zu der dort die Oligodendrozyten-Vorläufer entstehen [20]. Um seine Rolle zu überprüfen wurden Versuche an transgenen Mäusen durchgeführt; eine Gruppe mit vermehrter Expression von IGF-I, die andere mit Expression von IGF-I bindendem Protein (IGFBP-I), welches die Wirkung von IGF-I blockiert, wenn es im Überschuss vorliegt. Es zeigte sich, dass in der Gruppe der IGF-I transgenen Mäuse sowohl die Dicke der produzierten Myelinscheiden als auch deren Anzahl deutlich erhöht war. Auch war die Anzahl der nachweisbaren Oligodendrozyten größer als in Kontrollgruppen. Hingegen wiesen die IGFBP-I transgenen Mäuse genau entgegengesetzte Befunde auf, nämlich reduzierte Myelinscheidendicke und verminderte Anzahl an myelinisierten Axonen [54]. IGF-I beeinflusst offenbar sowohl die Zellzahl als auch die Myelinproduktion jeder einzelnen Zelle positiv. Shinar et al. [223] konnten an kultivierten Ratten-Oligodendrozyten-Progenitoren zeigen, dass diese selbst IGF-I exprimierten. Dies bedeutet, dass die Oligodendrozyten-Entwicklung durch IGF-I teilweise einer Autoregulation unterliegt. Der IGF-I-Rezeptor ähnelt in seinem Bau stark dem Insulin-Rezeptor, einer Typ-2-Rezeptor-Tyrosin-Kinase, die im Gegensatz zu den im Vorfeld beschriebenen Rezeptoren bereits ohne Bindung des Liganden als Dimer vorliegt.

IGF-bindende Proteine (IGFBP): Wie voraus beschrieben fungiert IGF-I als Wachstumsfaktor für Oligodendrozyten-Vorläuferzellen und begünstigt deren

Überleben. Kuhl et al. [125] konnten in neueren Studien an Ratten zeigen, dass IGFBP-6 in Oligodendrozyten-Progenitoren (O-2A) erstmalig exprimiert wird. In den frühen Stadien ist es nur in geringem Maße vorhanden, wird aber im Zuge der Differenzierung hochreguliert. Seine Expression wird durch bFGF oder Progesteron reduziert, Östrogen hat den gegenteiligen Effekt, während IGF-I, PDGF und Insulin hierbei keine Wirkung zeigen. Nach Zufuhr von außen vermindert IGFBP-6 die Überlebenszeit der unreifen Oligodendrozytenformen in Abwesenheit von IGF-I, bzw. blockiert dessen positive Wirkung diesbezüglich. Außerdem ist unter IGFBP-6 eine Abnahme der Myelinproteine CNP und MAG, deren Produktion von IGF-I stimuliert wird, zu verzeichnen. Bei der Untersuchung der Effekte von IGFBP-1 und -2 zeigte sich ebenfalls eine Reduktion der Überlebenszeit von O-2A-Progenitorzellen als Reaktion auf die Zufuhr dieser Proteine, und zwar sowohl in Abwesenheit als auch in Anwesenheit von IGF-I [124]. Zusammenfassend lassen sich die IGF-bindenden Proteine als negative Effektoren im Hinblick auf die Differenzierung und das Überleben von Oligodendrozyten charakterisieren.

Neurotrophin-3 (NT-3): Im Nervus opticus wurde mit Neurotrophin-3 ein weiteres Mitogen nachgewiesen. Produziert von Astrozyten, stimuliert es die Zellteilungsaktivität von Oligodendrozyten-Progenitoren und verlängert in vitro deren Überlebenszeit. Die Wirkung tritt allerdings nur ein wenn gleichzeitig Insulin, PDGF oder die beiden in Kombination im umgebenden Milieu vorliegen [14;17;18]. Mc Tighe et al. [150] konnten am Rückenmark von Ratten, an denen vorher künstlich eine Läsion (Kontusion) gesetzt worden war, zeigen, dass NT-3 in Kombination mit brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in der Lage war, die Proliferation der vorhandenen Oligodendrozyten so zu stimulieren, dass eine Myelinisierung der sich regenerierenden Axone einsetzte. Die Bindungsstelle für NT-3 auf den Oligodendrozyten ist der TrkC-Rezeptor; Mäuse denen dieser oder der Wachstumsfaktor selbst fehlt, weisen einen deutlichen Mangel an

Oligodendrozyten-Progenitor-Zellen auf. Als Nebenbefund findet sich bei diesen Tieren ein erheblich reduziertes Kaliber des Rückenmarkes, was darauf hinweist, dass außer den Gliazellen auch noch andere Zellpopulationen des ZNS in ihrer Entwicklung von dem Mangel an NT-3 oder seinem Rezeptor betroffen sind [119].

Glial growth factor (GGF): Aus der Familie der Neureguline, einer Gruppe von Wachstumsfaktoren, entsteht durch alternatives Splicing unter anderem der GGF. Er wird von Neuronen produziert und wirkt auf Oligodendrozyten-Precursorzellen, indem er ihre Mitoseaktivität steigert, die Überlebenszeit verlängert sowie den Differenzierungsprozess verzögert [49;50]. Vartanian et al. [247] untersuchten Mäuse mit einem Mangel an den Faktoren der Neuregulin-Familie und stellten fest, dass sich hierbei im Rückenmark keine Oligodendrozyten entwickeln konnten. In vitro zeigte sich, dass die Zufuhr von rekombinantem Neuregulin zu derartigen Rückenmarks-Explantaten wieder eine normale Entwicklung der Oligodendroglia bedingte.

Ciliary neurotrophic factor (CNTF): Im Zusammenspiel mit PDGF wirkt CNTF als Mitogen auf die Vorläuferzellen der Oligodendrozyten und begünstigt ihr Überleben. Bei Tieren mit einem Mangel an CNTF wurde eine verminderte Zahl an diesen mitotisch aktiven Zellen festgestellt [19].

Interleukin-6 (IL-6): Auch Interleukin-6 beeinflusst offenbar die Überlebenszeit von Oligodendrozyten positiv; ähnliche Wirkung wird dem Leukemia Inhibitory Factor (LIF) zugeschrieben [94].

Barres et al. [19] stellten bei ihren Untersuchungen fest, dass für die Verhinderung des programmierten Zelltodes in vitro Faktoren aus drei Gruppen erforderlich sind: 1. Insulin oder IGF-I; 2. Neurotrophine, v.a. NT-3; 3. CNTF, Leukaemia Inhibitory Factor (LIF) und IL-6. Wenn einer bzw. mehrere Faktoren

aus nur einer Gruppe vorlagen, so bewirkte dies nur einen kurzen Aufschub des Apoptoseprogrammes. Kombinationen aus allen drei Gruppen ermöglichten hingegen ein langfristiges Überleben der Oligodendrozyten-Vorläuferzellen in Kultur.

Interleukin-2 (IL-2): Gliazellen, aber auch Neuronen werden durch IL-2 in ihrer Entwicklung beeinflusst. Dieses Lymphokin wird von T-Lymphozyten produziert und in Abhängigkeit von anderen Umgebungsfaktoren bewirkt es Proliferation und Differenzierung von Oligodendrozyten. Benveniste et al. [25] konnten eine deutliche Steigerung der MBP-Expression nach IL-2-Stimulation verzeichnen. Eitan et al. [72;73] fanden hingegen, dass bei niederen Wirbeltieren ein Dimer des IL-2 eine zytotoxische Wirkung auf Oligodendrozyten ausübte. In verletzten Nerven wurde dadurch eine Regeneration möglich, die sonst durch diese Gliazellen verhindert wird. Eizenberg et al. [74] konnten den zytotoxischen Effekt dieses Dimers, dessen Bildung durch eine Nerven-Transglutaminase katalysiert wird, in-vitro an Ratten-Oligodendrozyten zeigen. Sie stellten dabei fest, dass die kultivierten Zellen in einem Apoptoseprogramm, welches durch das Tumor-Suppressor-Gen p53 vermittelt wird, untergingen. IL-2 könnte daher im Zusammenhang mit entzündlichen Veränderungen oder Verletzungen des Gehirns eine Rolle spielen [26;182].

Transforming growth factor (TGF): Die durch PDGF induzierte Proliferation kann in vitro durch TGF- β unterdrückt werden. Asakura et al. [8] zeigten, dass TGF- β in seinen zwei Isoformen β 1 und β 2 von Neuronen im ZNS von Ratten, zusammen mit PDGF exprimiert wird. Die Blockade der PDGF-Wirkung in O-2A-Progenitor-Zellkulturen, welche diese Neuronen enthielten, reduzierte die Proliferation der Oligodendrozyten-Progenitoren. Positiv wirkt sich dieser Faktor hingegen auf die Differenzierung dieser Zellen aus [149]. Besnard et al. [28] untersuchten den Einfluss von TGF- β in Kombination mit bFGF. Dabei zeigte

sich, dass niedrige Dosen des Ersteren den mitogenen Effekt von bFGF potenzierten, während hohe Dosen diesen teilweise blockierten.

Hepatocyte growth factor (HGF): Der HGF wurde ursprünglich in seiner Funktion als potentes Mitogen für reife Hepatozyten identifiziert. Er übt aber darüber hinaus auch Effekte auf andere Zellen aus. Yan et al. [260] untersuchten den Einfluss dieses Wachstumsfaktors auf Oligodendrozyten-Precursorzellen aus dem Gehirn von neonatalen Ratten. Dabei zeigte sich, dass HGF ebenso wie sein Rezeptor auf diesen Zellen exprimiert wurde. Ihre Proliferationsrate verdoppelte sich als Reaktion auf die HGF-Stimulation und auch die Migrationsfähigkeit wurde beeinflusst.

Sonic hedgehog (Shh): Der Sonic hedgehog Signalweg, der v.a. die Entstehung der Oligodendrozyten-Precursorzellen aus neuroepithelialen Stammzellen induziert (siehe 1.3.4.), beeinflusst auch die Proliferation und Differenzierung der Ersteren. Davies et al. [60] wiesen in ihren Zellkultur-Experimenten nach, dass die Zugabe von Shh-Protein die Zahl der sich entwickelnden Oligodendrozyten deutlich steigert. Ursache dafür ist einerseits eine gesteigerte Proliferationsrate, andererseits wird das Überleben der proliferierenden Zellen begünstigt. Rowitch et al. [215] zeigten darüber hinaus, dass die Zelldifferenzierung der Precursorzellen behindert wird, wenn der Einfluss von Shh über den physiologischen zeitlichen Rahmen hinaus ausgedehnt wird. Das Verharren der Zellen im undifferenzierten Zustand kann dann sogar die Ausbildung von Tumoren begünstigen.

2.3.2. Hormone

Neben den oben beschriebenen Wachstumsfaktoren beeinflussen auch Hormone den Differenzierungs- und Proliferationsprozess der Oligodendrozyten.

Schilddrüsenhormon: Das von der Schilddrüse produzierte Hormon 3,3',5-Trijodthyronin (T_3) beeinflusst sowohl den Differenzierungs- als auch den Myelinisierungsprozess. In Zellkulturen kann beobachtet werden, dass Oligodendrozyten-Progenitoren unter T_3 -Einwirkung die Proliferation beenden und sich zu differenzieren beginnen. Almazan et al [3] konnten dies anhand einer deutlichen Steigerung der Enzymaktivität der CNP, sowie einer mittelgradigen Erhöhung der Expression von MBP – beides Marker von differenzierten Oligodendrozyten – nachweisen. Dieses Hormon scheint ein wichtiger regulatorischer Faktor für den zeitlichen Ablauf der Reifungsvorgänge zu sein, denn sein Fehlen bewirkt in Zellkulturen, in denen Wachstumsfaktoren die Proliferation fördern, unaufhörliche Zellteilungen aber keinerlei Tendenz zu weiterer Differenzierung [15]. Auch nach dem Abschluss der Proliferation hat T_3 noch wichtigen Einfluss, indem es die Ausreifung der postmitotischen Oligodendrozyten hin zu aktiv myelinisierenden Zellen fördert und somit deren Zahl erhöht, und gleichzeitig das Längenwachstum der Zellfortsätze sowie deren Verzweigung fördert [9]. Funktionsstörungen der Schilddrüse haben demzufolge deutlichen Einfluss auf die Entwicklung der weißen Substanz im ZNS. Wie zu erwarten ist bei Vorliegen einer Hyperthyreose die Myelinisierung beschleunigt, während bei hypothyreoter Stoffwechsellage eine Verlangsamung und Reduzierung dieses Vorganges auffällt [250].

Die Wirkung von T_3 wird vermittelt durch die Bindung des Hormons an seinen Rezeptor (TR). Dieser tritt in unterschiedlichen Isoformen (α_1 , β_1 und β_2) auf, deren Vorkommen in den Zellen der Oligodendrozyten-Linie in Abhängigkeit von deren Differenzierungsstatus wechselt. So findet man in Progenitor-Zellen überwiegend die α_1 -Form, aber auch β_2 -Rezeptoren treten auf. Reife Oligodendrozyten exprimieren die α_1 - und β_1 -Variante und es kann während der Gehirnentwicklung mit Einsetzen der Myelin-Gen-Expression ein deutlicher Anstieg der β_1 -Isoform registriert werden [9;15]. Der TR liegt intrazytoplasmatisch und fungiert nach der Bindung des Liganden als

Transkriptionsfaktor, indem er an eine regulatorisch wirkende DNA-Sequenz, das sog. Thyroid Hormone Responsive Element (TRE) bindet und dadurch die Genexpression reguliert. Bekannte Zielorte sind die Gene für MBP, PLP, MAG und CNP [81;112].

Wachstumshormon (GH): Man sieht sowohl bei Neuronen als auch bei Gliazellen eine Beeinflussung der Proliferation und Reifung durch Wachstumshormon. Mäuse mit einem Mangel an GH weisen ein deutlich geringeres Gehirnvolumen mit reduziertem Neuronenwachstum und Hypomyelinisierung auf; letztere ist auf eine reduzierte Proliferation der Oligodendrozyten zurückzuführen [172].

Steroidhormone: Jung-Testas et al. [118] konnten zeigen, dass Oligodendrozyten Steroidhormone (Progesteron, Pregnenolon und ihre sulfatierten Metabolite) produzieren können und untersuchten deshalb an Kulturen von Oligodendrozyten aus dem Großhirn von neugeborenen Ratten den Effekt dieser Hormone auf das Wachstum der Gliazellen und die Produktion von myelinspezifischen Komponenten. Progesteron erwies sich dabei als hemmender Faktor auf die Zellproliferation. Diese Wirkung konnte vom Progesteron-Antagonisten RU 486 aufgehoben werden, was für eine rezeptorvermittelte Proliferationshemmung spricht. Die Expression von MBP in reifen Oligodendrozyten wurde durch das Progesteron deutlich gesteigert. Dieser Effekt ließ sich durch RU 486 jedoch nicht blockieren und verstärkte sich durch die gleichzeitige Applikation von Insulin sogar noch. Eine entsprechende Reaktion ergab sich nach Progesteron-Zufuhr bezüglich der Produktion von CNP, wohingegen keinerlei Veränderung bei der GalC-Expression zu beobachten war. Die Zugabe von Östradiol zum Kulturmedium erhöhte ebenfalls die Zahl der MBP⁺-Zellen – hier war aber nur ein geringfügiger Synergismus zu Insulin zu vermerken. Die Steroidhormone Dexamethason, Dehydroepiandrostenon und Pregnenolon zeigten hingegen

keinerlei Wirkung auf die Proliferation der Oligodendrozyten-Precursorzellen oder die Produktion von Myelin-Bestandteilen.

2.3.3. Neurotransmitter

Daten aus neueren Untersuchungen ergaben Hinweise darauf, dass Neurotransmitter mit ihren Rezeptoren im Nervensystem außer der Fortleitung von Erregung noch andere Aufgaben übernehmen und möglicherweise Zellproliferation und/oder –differenzierung innerhalb der Oligodendrozyten-Zelllinie mit beeinflussen [24].

Glutamat: Der bei Säugetieren häufigste, erregende Neurotransmitter Glutamat ist nach den Ergebnissen neuerer Studien an der Entwicklung der Oligodendroglia mit beteiligt. Yuan et al. [264] überprüften dies, indem sie Kulturen von Kleinhirnschnitten in-vitro mit Glutamat-Rezeptor-Agonisten bzw. –Antagonisten behandelten und deren Wirkung durch den Nachweis von zellspezifischen Markern überprüften. Die Glutamat-Rezeptor-Agonisten Kainat oder α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure (AMPA) reduzierten nach ihrem Einbringen in die Kultur signifikant den Anteil an NG2⁺ und O4⁺ Zellen, sowie deren Mitoseaktivität, was durch das Ausmaß an Bromdeoxyuridin-Aufnahme gemessen wurde. Der genau gegenteilige Effekt wurde mit Hilfe des Non-N-Methyl-D-Aspartat-(nonNMDA)-Glutamat-Rezeptor-Antagonisten 6,7-Dinitroquinoxalin-2,3-dion erzielt. Die Expression von CNP-RNA wurde ebenfalls gemessen und es zeigte sich bei Behandlung mit den Agonisten ein deutlicher Abfall, unter den Antagonisten hingegen eine Zunahme. Der NMDA-Rezeptor-Antagonist 2-Amino-5-phosphopentansäure veränderte weder die Proliferationsaktivität noch den Anteil an O4⁺-Zellen, ebenso wie der γ -Amino-Butyrat-(GABA)-Rezeptor-Antagonist Bicucullin. In Oligodendrozyten-Progenitor-Kulturen wurde nachgewiesen, dass Glutamat-Rezeptor-Agonisten

Kalium-(K⁺)-Kanäle blockierten und damit gleichzeitig Zellproliferation und Differenzierungsfortschritt. Mittels des K⁺-Kanal-Blockers Tetraethylammonium (TEA) wurde gleichfalls die Proliferation unterbunden. Zusammenfassend ergab die Studie, dass Glutamat die Entwicklung der Oligodendroglia durch die selektive Aktivierung von AMPA-Rezeptoren spezifisch beeinflusst (Astrozytenentwicklung wurde nicht beeinträchtigt) und dass Zelldepolarisation und Blockade von spannungsabhängigen K⁺-Kanälen die auslösenden Mechanismen sind [90].

Dopamin: Unreife Oligodendrozyten und Precursor-Zellen (A2B5+, O1-) exprimieren im Gegensatz zu den reifen Zelltypen (A2B5-, O1+) den Dopamin-Rezeptor D3 (D3R). Der Einsatz eines Dopamin-Agonisten führte zu einer reduzierten Anzahl an O1+ Zellen bei gleichzeitiger Zunahme der Precursor-Zellen. Durch den Dopamin-Antagonisten Haloperidol ließ sich dieser Effekt verhindern [33]. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Dopamin oder ein anderer D3R-Ligand eine Rolle in der Oligodendrozyten-Differenzierung spielen.

Opioid: Oligodendrozyten exprimieren Opioid-Rezeptoren; μ -Rezeptoren finden sich schon auf sehr frühen Vorläuferstadien, während der κ -Typ erst zu einer Zeit nachweisbar ist, wenn MBP produziert wird. Knapp et al [123] fanden bei in vitro Untersuchungen, dass der μ -Rezeptor Agonist PLO17 (H-Tyr-Pro-Phe(N-Me-)D-Pro-NH₂) eine deutliche Zunahme der DNA-Synthese in O4+ Zellen bewirkte. Dieser Effekt, der bei MBP+ Zellen nicht mehr zu sehen war, ließ sich durch den Einsatz des Antagonisten Naloxon vollständig blockieren. Der κ -Rezeptor scheint die Proliferation nicht zu beeinflussen - Agonisten steigern aber offenbar die Myelin-Synthese. Die Beobachtung, dass die sog. Jimmy-Maus, eine Mutante mit fast völligem Fehlen von Myelin und mit verkürzter Lebensdauer der Oligodendrozyten, praktisch keine κ -Rezeptoren aufweist, unterstützt diese These weiterhin.

2.3.4. Sonstige Einflussfaktoren

Elektrische Aktivität der Axone: Nachdem Oligodendrozyten für die Myelinscheidenbildung um die Axone verantwortlich sind, wäre es nur sinnvoll, wenn die Nervenzellfortsätze selbst auch an der Regulation der Gliazellentwicklung beteiligt sind. Barres und Raff [16] konnten zeigen, dass im sich entwickelnden Nervus opticus von Ratten die Proliferation von Oligodendrozyten-Precursor-Zellen von der elektrischen Aktivität in den benachbart liegenden Axonen abhängig ist. Der Weg auf dem dies geschieht, scheint eine Beeinflussung der Produktion und/oder Freisetzung der Wachstumsfaktoren zu sein, die wie bereits beschrieben, die Vermehrung der Gliazellen fördern. Auch nach Abschluss der Differenzierung ist die elektrische Aktivität der Axone für die Myelinsynthese von Bedeutung. Nach experimenteller Durchtrennung der Nervenfasern ist im Bereich distal der Läsion der Gehalt an Myelinprotein mRNA deutlich reduziert [121]. Eine Steigerung der Myelinproduktion durch Stimulation der Aktionspotentiale konnte ebenso demonstriert werden, wie der gegenteilige Effekt bei Blockade der Nervenimpulse [63].

Anzahl der Axone: Burne et al. [40] fanden bei einer Untersuchung an transgenen Mäusen, die aufgrund der Expression des humanen bcl-2-Gens unter der Kontrolle eines neuronenspezifischen Enolase-Promotors eine erhöhte Zahl an Axonen im Nervus opticus aufwiesen, dass die Tiere auch deutlich mehr Gliazellen (Astrozyten, Oligodendrozyten und Mikroglia) in ihrem Sehnerv besaßen. Im Hinblick auf die Oligodendrozyten beruhte diese Zunahme zum Einen auf der verstärkten Proliferation der Vorläufer-Zellen, zum Anderen auf der Reduktion des normalerweise ablaufenden Apoptose-Programmes. Die Anzahl der vorhandenen, zu myelinisierenden Axone beeinflusst also offenbar direkt die Entwicklung der dafür zuständigen Zellen.

Notch-Rezeptor: Laut einer Studie von Wang et al. [252] ist über den Notch Signalweg eine wirksame Inhibition der Oligodendrozyten-Differenzierung möglich. Sie wiesen Notch1-Rezeptoren auf Oligodendrozyten und ihren Vorläufer-Zellen im Sehnerv von Ratten während der Entwicklung nach. Gleichzeitig exprimierten retinale Ganglienzellen den Notch1-Liganden Jagged1 entlang ihrer Axone, wobei diese Expression zeitlich parallel zur Myelinisierung der Axone herunterreguliert wurde. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Zeitpunkt der Differenzierung der Oligodendrozyten und damit das Einsetzen der Myelinproduktion durch den Notch Signalweg kontrolliert wird.

Tenascin-C: Das Extrazelluläre-Matrix-Glykoprotein (ECM-Glykoprotein) Tenascin-C wird in vielen Bereichen des ZNS von Wirbeltieren während der Entwicklung und bei Gewebsreparatur exprimiert. Obwohl in Zellkultur viele Effekte dieses ECM-Moleküls bekannt sind, fanden sich in Tenascin-C-knockout-Mäusen keine offensichtlichen ZNS-Abnormitäten, was die Frage nach seiner Bedeutung in-vivo aufwarf [93]. Garcion et al. [93] führten diesbezüglich Untersuchungen an einem derartigen Mäusestamm durch, wobei sie insbesondere den Einfluss auf Oligodendrozyten-Proliferation und -Migration untersuchten. Die knockout-Mäuse zeigten in verschiedenen ZNS-Regionen reduzierte Proliferationsaktivität der Precursor-Zellen, ebenso wie reduzierte Apoptose von späteren Differenzierungsstadien. Darüber hinaus war die Reaktion auf den mitogen wirkenden Faktor PDGF nahezu aufgehoben. Garcion et al. [93] wiesen außerdem nach, dass die Stimulation der Proliferation durch Tenascin-C durch das Integrin $\alpha_v\beta_3$ vermittelt wird, da nach der Blockade dieses Rezeptors keine vermehrte Proliferationsaktivität mehr zu verzeichnen war. Garwood et al. [96] konnten ebenfalls an Tenascin-C-Null-Mäusen zeigen, dass die Expression dieses ECM-Proteins durch LIF und CNTF hochreguliert werden kann. In der Abwesenheit von Tenascin-C fand sich außerdem eine beschleunigte Reifung der

Oligodendrozyten-Vorläuferzellen und damit verbunden ein früherer Verlust der Reaktivität auf die Signale von PDGF.

Zell-intrinsische „Uhr“: Wie viele andere Precursor-Zellen, durchlaufen auch die Oligodendrozyten-Vorläufer eine definierte Anzahl von Zellteilungen, hören dann auf sich zu teilen und differenzieren sich zu reifen Zellen. Die Frage nach den Mechanismen, die diesen Proliferationsprozess limitieren und das Ende der Mitoseaktivität bedingen, war Gegenstand neuerer Untersuchungen [15]. Gao et al. [92] fanden bei ihren Studien an Oligodendrozyten aus Sehnerven von Ratten heraus, dass ein intrinsischer „Uhr“-Mechanismus diese Abläufe reguliert. Er besteht aus einem „Zähler“ und einem Effektor-Mechanismus, der die Zellteilungen unterbindet, sobald der definierte Zeitpunkt erreicht ist. Durch den Vergleich der Zellteilungsaktivität bei unterschiedlichen Temperaturen (33°C und 37°C) konnten sie zeigen, dass offenbar nicht die Anzahl der Teilungen, sondern die dabei verstrichene Zeit der Ausschlag gebende Faktor ist, da die Zellen, die sich bei der niedrigeren Temperatur langsamer und seltener teilten, früher, d.h. nach weniger Zellteilungen, begannen sich zu differenzieren. Bei der Suche nach den Mechanismen untersuchten verschiedene Studien [68;92] die Kontrollsysteme des Zellzyklus. Durand et al. [68] fanden dabei, dass Cyclin D1 und Cdc-2-Kinase, zwei Komponenten dieser Systeme, in proliferierenden Oligodendrozyten nachweisbar waren, nicht aber in ausgereiften. Außerdem konnten sie nachweisen, dass der Spiegel des Inhibitors p27 für die Cyclin-abhängige Kinase (CdK) während der Zellteilungen der Vorläuferzellen deutlich anstieg und in den reifen Zellen in hohem Maße vorhanden war. Diese Erkenntnisse weisen darauf hin, dass p27 ein wichtiger Faktor sowohl des Zählmechanismus als auch des Effektors ist, der den Zellzyklus zum richtigen Zeitpunkt anhält. Auch Schilddrüsenhormon scheint über seinen β_1 -Rezeptor am „Timing“ des Differenzierungsprozesses entscheidend beteiligt zu sein [15;91].

3. Migration

Wie in Kapitel 1, Ursprung und Entwicklung, ausführlich dargestellt, entstehen die Oligodendrozyten-Precursorzellen an wenigen, lokal begrenzten Ursprungsorten. Im adulten ZNS sind sie jedoch über die gesamte weiße und auch graue Substanz von Rückenmark und Gehirn verteilt zu finden. Um zu ihren Zielorten zu gelangen, müssen die Zellen teilweise beträchtliche Distanzen überwinden. Die dazu notwendige Migration findet statt bevor die Zellen die letzten Differenzierungsschritte durchlaufen. Differenzierte Oligodendrozyten sind nicht mehr migratorisch aktiv (siehe auch 2.1.). Die Oligodendrozyten des Nervus opticus beispielsweise entstehen in einer germinalen Zone nahe des Chiasma opticum, d.h. außerhalb des Nerven und besiedeln diesen erst postnatal [225]. Im Rückenmark liegen die Ursprungsorte in den ventralen Ventrikular- und Subventrikularzonen. Die migratorischen Oligodendrozyten-Precursoren wandern von dort aus in ventro-dorsaler und zentral-peripherer Richtung um die entstehende weiße Substanz zu besiedeln [175]. Und auch in den weiter rostral gelegenen Gehirnregionen ist ein ganz ähnliches Entstehungs- und Verteilungsmuster zu beobachten [133;265].

3.1. Migrationswege im Gehirn

Timsit et al. [238] untersuchten in ihrer bereits zitierten Studie am Gehirn von Mäuseembryonen (siehe 1.5.) nicht nur das erstmalige Auftreten der Oligodendrozyten-Precursoren, sondern beobachteten auch deren nachfolgende Verteilung (siehe nachfolgende Abbildung 10). Die ersten auftretenden Zellen, charakterisiert anhand ihrer DM-20-Expression, waren am Tag E 9,5 im Bereich der lateralen Grundplatte des Diencephalons zu sehen. Von ihrem Ursprungsort in der ventrikulären Zone wanderten diese in Richtung der sich entwickelnden Mantelzone. Anhand von Sagittalschnitten am Tag E 12,5 ließ sich eine Ausbreitung entlang von zwei Achsen zeigen. Zum einen erstreckte sich eine

dünne Linie von radial ausgerichteten, DM-20 positiven Zellen zwischen anteriorem und posteriorem Thalamus nach dorsal. Die zweite Achse war nach rostral gerichtet, entlang der Basalplatte des Hypothalamus. Zwei Tage später waren nahezu alle DM-20 positiven Zellen aus der ventralen Germinalzone verschwunden, dafür erschienen zunehmend solche Zellen in der Mantelzone, wo sie sich wiederum drei Tage später in der äußeren Schicht sowie in der Nachbarschaft von großen Nervenfaserversträngen nachweisen ließen. Am Tag P 1 fanden sich auch Oligodendrozyten-Precursoren im Bereich des dritten Ventrikels [238].

Das Telencephalon wird von dem Ursprungsort im Bereich der medialen und lateralen Ganglieminienz sowie der vorderen Entopeduncularregion (ab E 12,5 Oligodendrozyten-Precursoren nachweisbar) aus mit Oligodendrozyten besiedelt [174;228]. Am Tag P1 waren DM-20 positive Zellen in der supralentikulären Capsula interna sowie in der subcorticalen weißen Substanz zu sehen. Diese Zellen waren zum Einen dorsomedial in Richtung Corpus callosum orientiert, zum anderen ventrolateral, in den Cortex piriformis hinein [238]. Die Oligodendrozyten des Nervus opticus entstammen einem Fokus nahe der ventralen Mittellinie des dritten Ventrikels, oberhalb des Chiasma opticum. Von hier aus wandern sie in den Nerven ein und besiedeln ihn auf seiner gesamten Länge [178;225].

Im Rhombencephalon waren die ersten Oligodendrozyten-Vorläuferzellen am Tag E 12,5 nachzuweisen. Sie bildeten zwei Zellsäulen in der Ventrikularzone beidseits des Zentralkanals. Im Zeitraum vom Tag E 14,5 bis P 1 wanderten diese Zellen in dorsaler Richtung aus der ventrikulären Zone aus und besiedelten die weiße und graue Substanz. Am Tag P 1 war nahezu der gesamte Hirnstamm durch Oligodendrozyten-Precursoren infiltriert. Sie waren dabei in besonders hohem Maße im ventralen Bereich der Pons, in absteigenden Nervenbahnen wie dem Nervus trigeminus, sowie in der weißen Substanz des Cerebellums zu finden [238].

3.2. Migrationswege im Rückenmark

Auch die Migrationswege im Bereich des Rückenmarks wurden von Timsit et al. [238] aufgezeigt (siehe nachfolgende Abbildung 10). Sie fanden hierbei ein ganz ähnliches Verteilungsmuster wie im Rhombencephalon (s.o.). Die ersten Vorläuferzellen, die hier am Tag E 14,5 in zwei Reihen ventrobasal mit Kontakt zum Lumen des Zentralkanals aufgetreten waren, wanderten in dorsale Richtung in die graue und weiße Substanz ein. Auch hier fand sich am Tag P 1 eine nahezu vollständige Besiedlung, wobei im Bereich der ventralen Marginalschicht eine besonders intensive DM-20-Expression auffiel.

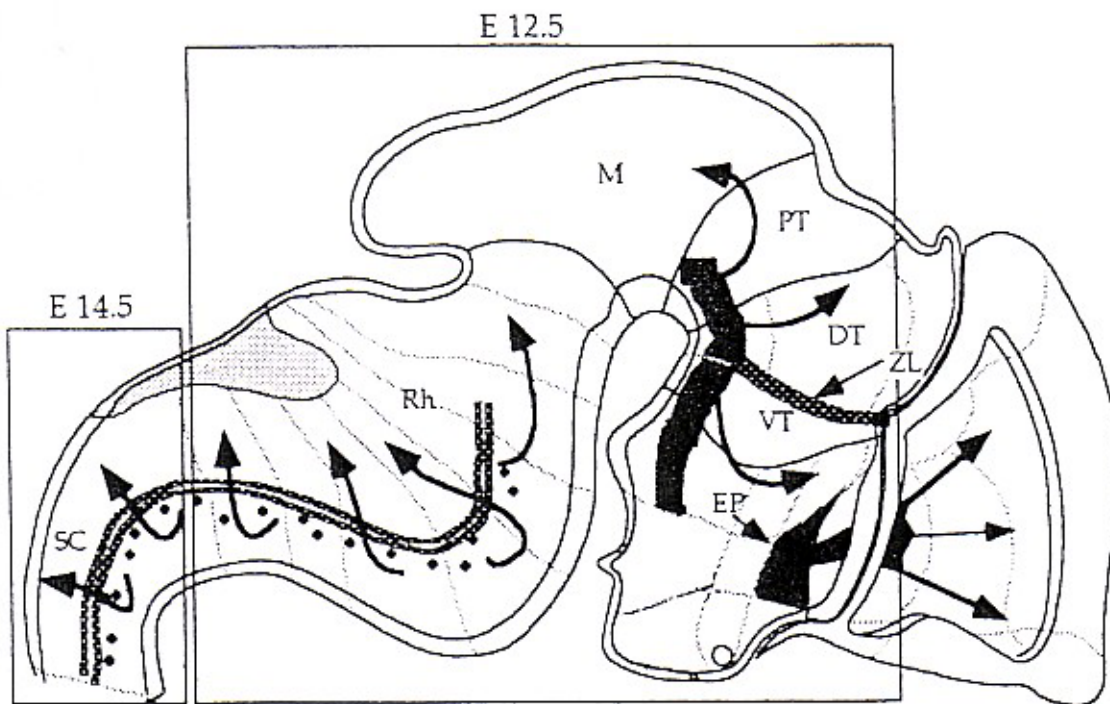


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Auftretens und der nachfolgenden Migration von DM-20-positiven Oligodendrozyten-Precursorzellen. (SC – Rückenmark, Rh – Rhombencephalon, M – Metencephalon, PT – Prätectum, DT – dorsaler Thalamus, VT – ventraler Thalamus, ZL – Zona limitans intrathalamica, EP - Entopeduncularregion) Nach Timsit et al., 1995 [238].

Ono et al. [175] untersuchten am Rückenmark von Hühnerembryonen die Migration von Oligodendrozyten-Precursoren. Sie verwendeten den mAk O4, der bei Vögeln bereits ab dem Tag E 6 für den Nachweis von frühen Oligodendroglia-Zellen geeignet ist. Von E 7- und E 8-Embryonen wurden dazu Sagittalschnitte des Rückenmarks angefertigt. Im Paramedianschnitt waren dabei O4-positive Zellen ausschließlich in einem schmalen Band in der ventralen Region sichtbar. Weiter lateral, d.h. in der sich entwickelnden grauen Substanz, war dieses Band deutlich breiter und die Zellen zeigten sich überwiegend ventrodorsal ausgerichtet, im ventralen Bereich allerdings auch rostrokaudal. Die ventrodorsal orientierten Zellen waren langgestreckt und wiesen einen kolbig endenden Fortsatz auf. Am Tag E 8 war der Anteil dieser Zellen in der dorsalen Rückenmarkshälfte im Vergleich zum Vortag deutlich höher. Morphologisch identische Zellen fanden sich auch in der Peripherie des Rückenmarks, der späteren weißen Substanz. Hier war die Zellorientierung aber überwiegend rostrokaudal, entsprechend der Richtung der dort verlaufenden Axone.

Auch Pringle et al. [197] fanden bei ihren Untersuchungen Hinweise auf rostrokaudale Migration von Oligodendrozyten-Precursoren. Sie untersuchten Mäuseembryonen mit einer Mutation, welche die diskontinuierliche Ausbildung der Chorda dorsalis in kaudalen Regionen zur Folge hat. In den Regionen ohne Chorda waren am Tag E 13, im Gegensatz zu weiter kranial gelegenen Abschnitten mit normaler Embryonalentwicklung, keine PDGFR- α positiven Oligodendrozyten-Vorläuferzellen zu finden. Bei Kontrolluntersuchungen sechs Tage später waren aber auch in den veränderten Rückenmarksabschnitten diese Zellen zu finden, allerdings nie in der ventrikulären Zone. Dies weist darauf hin, dass sie nicht in diesem Rückenmarkssegment entstanden, sondern aus benachbarten Abschnitten eingewandert waren.

3.3. Einflussfaktoren

Die Faktoren, welche die Migration der Oligodendrozyten-Precursorzellen beeinflussen waren in jüngerer Zeit Gegenstand von vielen Studien. Diese konzentrierten sich auf den Bereich des Rückenmarkes und des Nervus opticus. Die richtungsweisenden Einflüsse im Bereich des Gehirns hingegen sind noch weitgehend unklar. Die bislang identifizierten Einflussfaktoren sind zum einen Komponenten der extrazellulären Matrix (ECM), zum anderen sind sie sekretorischer Art. Zu unterscheiden sind des weiteren die Reichweiten des Einflusses (kurze oder lange Distanz), sowie die Richtung der Wirkung (anziehend oder abstoßend) [113].

Einflüsse, die über kurze Distanz wirken: Die über kurze Distanzen wirksamen Einflussfaktoren sind entweder an eine Oberfläche gebunden oder verbleiben in unmittelbarer Nachbarschaft ihres Ursprungsortes.

-Extrazelluläre Matrix (ECM): Zu dieser Gruppe gehören die Komponenten der ECM. Substratgebundenes Laminin, Vitronectin oder Fibronectin begünstigten die Migration von Oligodendrozyten-Precursoren, während Kollagen und Tenascin-C (TN-C) diese behinderten [87;157]. In gelöster Form hatten jedoch weder Laminin noch Fibronectin eine sichtbare Wirkung [7].

Der Einfluss von TN-C, einem ECM-Glykoprotein, auf migratorische Oligodendrozyten-Precursorzellen wurde von Garcion et al. [93] am Sehnerv von TN-C-knock-out-Mäusen näher untersucht. Sie konnten dabei zeigen, dass bei den Mutanten eine deutlich frühere und schnellere Besiedlung des Nerven mit einer höheren Anzahl an PDGFR- α -positiven Zellen erfolgt als in den Kontrolltieren. Dieser Unterschied war ab Tag P 5 jedoch nicht mehr erkennbar. Die Zufuhr von TN-C reduzierte die Migration nicht auf das Maß der Wildtyp-Mäuse. Dies weist darauf hin, dass direkte und indirekte Auswirkungen des TN-C-Mangels existieren. Das Glykoprotein interagiert beim Aufbau der ECM mit

anderen ECM-Molekülen. Das Fehlen des TN-C bedingt eine Veränderung der dreidimensionalen Ausbildung der ECM und beeinflusst so auch die Interaktionen mit den darin befindlichen Zellen. Die Inhibition der Oligodendrozyten-Migration durch TN-C wurde in früheren Studien [22] als mögliche Ursache für die fehlende Myelinisierung in zwei ZNS-Bereichen, der Retina und der cerebellaren Molekularschicht, vermutet. Da jedoch auch bei den TN-C-Null-Mäusen keine Oligodendrozyten in diesen Zonen zu finden waren, war diese These nicht zu bestätigen [93].

-Integrine: Die $\alpha_v\beta_1$ -Integrine, die auf Oligodendrozyten-Precursoren exprimiert werden, scheinen ebenfalls Einfluss auf deren Migration zu nehmen. Sie binden Fibronectin und Vitronectin und bei Blockade ihrer Funktion wurde auch die Wanderung der Oligodendrozyten-Vorläuferzellen behindert [158]. Außerdem zeigte sich, dass der Verlust der Migrationsfähigkeit im Lauf der Differenzierung zeitgleich mit der Herunterregulierung der Expression der $\alpha_v\beta_1$ -Integrine erfolgt [158].

-PSA-NCAM: Das polysialylierte neuronale Zelladhäsionsmolekül findet sich auf der Oberfläche der hochmotilen O-2A-Progenitorzellen [225]. Im weiteren Verlauf der Differenzierung verlieren die Zellen dieses Oberflächenmolekül bei gleichzeitiger Reduzierung ihrer Migrationsfähigkeit. Wang et al. [251] behandelten O-2A-Progenitorzellen mit einer Endoneuraminidase, welche die PSA von der Zelloberfläche entfernte. Daraus resultierte eine vollständige Blockade der Zellwanderung. Die Bindung der PSA verändert die Interaktionen zwischen den NCAM-Molekülen und den umgebenden Strukturen und führt so zu einer verminderten Zelladhäsion. Dies ist möglicherweise die Ursache für die Begünstigung der Migration durch PSA-NCAM [216].

-Oberflächenstruktur: Die Wirkung von Oberflächenstrukturen auf migratorische Oligodendrozyten untersuchten Webb et al. [254] in ihrer Studie. Sie beobachteten das Verhalten von O-2A-Oligodendrozyten-Progenitorzellen auf

einer strukturierten Oberfläche im Gegensatz zu einer glatten. Dabei fanden sie, dass die Zellen bei Kultivierung auf gefurchten Flächen ihre Fortsätze entsprechend der vorgegebenen Matrix ausrichteten. Im Gegensatz dazu wiesen die Zellen auf den glatten Oberflächen eine radiale Ausrichtung ihrer Fortsätze auf.

Einflüsse, die über längere Distanzen wirken: Über längere Distanzen wirkende Einflussfaktoren sind Wachstumsfaktoren, Netrine, Semaphorine sowie bestimmte Chemokine.

-Wachstumsfaktoren: Die beiden Hauptmitogene in der Oligodendrozyten-Entwicklung, PDGF und bFGF, haben offenbar auch bei der Migration Funktionen zu übernehmen. In mehreren Studien [7;158;224] zeigte sich ein positiver Effekt dieser beiden Wachstumsfaktoren auf die Wanderung von Oligodendrozyten-Precursorzellen. Bei der gleichzeitigen Zufuhr beider Faktoren ließ sich aber keine additive Wirkung nachweisen. Während des Zeitraumes, in dem Oligodendrozyten-Migration zu beobachten ist, wird PDGF sowohl von Astrozyten im Nervus opticus [165] als auch von Neuronen im sich entwickelnden Gehirn und Rückenmark [262] exprimiert. In PDGF-knock-out-Mäusen ist die Anzahl von Oligodendrozyten und ihren Vorläuferzellen deutlich reduziert [88]. Diesbezüglich lassen sich jedoch die mitogenen Effekte nicht von den Einflüssen auf die Migration trennen [44].

Auch für den Hepatocyte growth factor (HGF) ließ sich eine migrationsfördernde Wirkung aufzeigen. Nach der Zufuhr von HGF zeigte sich eine deutliche Steigerung der Motilität von Oligodendrozyten-Precursorzellen [260].

-Netrine: Netrine sind eine Familie von sekretorischen Proteinen, welche die Migration von Neuronen und die Entwicklung ihrer Axone beeinflussen. Sie wirken beim gerichteten Wachstum der Neuriten auf bestimmte Axontypen anziehend, auf andere hingegen abstoßend [143]. Netrin-1 wird im Rückenmark

von Bodenplattenzellen, d.h. in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Ursprungsorten der Oligodendroglia sezerniert [114]. Und auch im Gehirn ist seine Expression in der Nähe solcher Herde, sowie im Chiasma opticum und dem Nervus opticus zu finden. Diese Lokalisationen ließen eine Funktion bei der Migration der Oligodendrozyten-Precursoren vermuten. Außerdem konnten auf der Oberfläche dieser Zellen im Rückenmark und im Sehnerven die Netrin-Rezeptoren DCC und Unc5H1 nachgewiesen werden [114;227;243]. In Zellkulturen bzw. Migrations-Assays zeigte sich, dass migratorische Oligodendrozyten-Precursoren von Netrin-1-Quellen wegwanderten und dass die Blockade der Netrin-Rezeptoren diese Wirkung aufheben konnte [114;233;243]. Jarjour et al. [114] zeigten anhand von Mäusen mit einem Mangel an Netrin-1 bzw. seinem Rezeptor DCC, dass die Migration von ventralen in dorsale Bereiche des Rückenmarks beeinträchtigt wurde und wiesen somit deren Notwendigkeit für diesen Prozess nach. Tsai et al. [243], die ebenfalls die ventrodorsale Migration als Antwort auf die repulsive Wirkung von Netrin-1 im kaudalen Neuralrohr beobachtet hatten, fanden hier zusätzlich ventral wandernde Oligodendrozyten-Precursoren. Sie präsentierten dafür zwei mögliche Erklärungen: zum Einen die unterschiedliche Reaktion von zwei verschiedenen Oligodendrozyten-Zelllinien auf den gleichen Einflussfaktor, zum Anderen die Einwirkung von lokalen Signalen, die es einer kleinen Zellgruppe erlaubt, dem Einfluss von Netrin-1 zu entgehen. Im Bereich des Sehnerven erscheint es naheliegend, dass Netrin-1 durch seine abstoßende Wirkung auf Oligodendrozyten-Precursoren die Wanderung dieser Zellen vom Chiasma in Richtung Retina bewirkt. Das Vorkommen des Proteins in der Retina verhindert dann wiederum das Einwandern in diese Schicht [113]. Spassky et al. [227] fanden im Gegensatz zu den anderen Studien eine geringe Anziehung zwischen Oligodendrozyten-Precursorzellen und Netrin-1 in vitro. Sie beobachteten diese Wirkung für die Interaktion zwischen dem Protein und seinem DCC-Rezeptor, bei der Bindung von Netrin-1 an Unc5H1 wurde jedoch ebenfalls ein repulsiver Effekt registriert.

Dieses, von den anderen abweichende Resultat ist möglicherweise auf Unterschiede im Alter der verwendeten Gewebe bzw. in der Durchführung der Experimente zurückzuführen. Eine zweite mögliche Erklärung ist die Verwendung von unterschiedlichen Oligodendrozyten-Zelllinien, deren Existenz von Spassky et al. [229] bereits früher propagiert wurde.

-Semaphorine: Semaphorine sind eine große Familie von Proteinen, die sowohl in sezernierter Form, als auch als Transmembranproteine vorkommen. Gemeinsam ist allen Vertretern die aminoternale „Sema“-Domäne. Klasse 3-Semaphorine werden sezerniert und fungieren, ähnlich wie die Netrine als abstoßend bzw. anziehend wirkende Faktoren auf Neuriten und frühe Oligodendroglia-Zellen. Ihre Bindungspartner sind Rezeptorenkomplexe, die sich aus Neuropilinen und Plexinen zusammensetzen [206]. Semaphorin-3A (Sema3A) wird ebenso wie Netrin-1 zur Zeit der Oligodendrozyten-Migration im Chiasma opticum, in der Umgebung des Nervus opticus und im ventralen Bereich des Rückenmarks exprimiert [152;233]. Die Expression der Rezeptor-Moleküle Neuropilin-1 und -2 wurde im sich entwickelnden Nervus opticus auf migratorischen Oligodendrozyten-Precursorzellen nachgewiesen. Auch in der Zellkultur waren sie nachweisbar und wurden im Laufe der fortschreitenden Differenzierung deutlich herunterreguliert [227;233]. Der Einfluss der Klasse-3-Semaphorine wurde in drei Studien untersucht – mit Unterschieden in den Resultaten. Spassky et al. [227] fanden eine abstoßende Wirkung von Sema3A auf migratorische Oligodendrozyten-Precursoren in Explantaten aus dem Sehnerv von Mäuseembryonen. Diesen Effekt konnten Sugimoto et al. [233] an ähnlichem Gewebematerial aus Rattenembryonen nicht beobachten. Cohen et al. [56] zeigten anhand von Zellkulturexperimenten, dass Oligodendrozyten-Precursorzellen aus dem Gehirn von neugeborenen Ratten von Sema3A, 3B, 3C und 3F abgestoßen wurden. Demgegenüber steht das Resultat von Spassky et al. [227], die für Sema3F in der Retina eine anziehende Wirkung auf Oligodendrogliazellen im Sehnerven von Mäusen registrierten. Auch hier sind wohl unterschiedliche

Entnahmezeitpunkt der Gewebe, speziesspezifische Unterschiede sowie voneinander abweichende Untersuchungsbedingungen als wahrscheinlichste Ursache der Diskrepanzen zu sehen.

- **Chemokin CXCL 1:** Tsai et al. [242] konnten in einer Studie zeigen, dass das Chemokin CXCL 1, welches von Astrozyten in der sich entwickelnden weißen Substanz produziert wird, die Migration von Oligodendrozyten-Precursorzellen stoppt. Nach der Zugabe von exogenem CXCL 1 zu Kulturen von Rückenmarksexplantaten wurde die Motilität dieser Zellen behindert und auch die diesbezügliche Reaktion auf PDGF wurde unterdrückt. Die Wirkung des Chemokins wird über die Bindung an seinen Rezeptor CXCR 2 vermittelt, der auf Oligodendrozyten nachgewiesen werden konnte. Bei Mäusen, denen dieser Rezeptor fehlte, zeigte sich eine abnorme Verteilung von Oligodendrozyten. Diese fanden sich im Rückenmark konzentriert in den äußersten Schichten direkt unter der Pia mater - ein Hinweis darauf, dass CXCL 1 im Zusammenspiel mit seinem Rezeptor für das rechtzeitige Anhalten von migratorischen Oligodendrozyten-Precursorzellen zuständig ist und so die physiologische Verteilung mit bedingt.

III. Glossar

Ak	Antikörper
bFGF	basischer fibroblast growth factor; auch FGF 2; Wachstumsfaktor
bHLH	basisches Helix-Loop-Helix-Protein
BMPs	Bone morphogenic proteins; Induktionsfaktoren, u.a. bei der dorsoventralen Segmentierung des Neuralrohres beteiligt
CA II	Carboanhydrase II; in allen Differenzierungsstadien der Oligodendroglia nachweisbar
CBP	cAMP-response element binding protein; Transkriptions-Coaktivator
CGT	UDP-Galaktose: Ceramid-Galaktosyl-Transferase; Myelinenzym
Chx 10	Entwicklungskontrollgen
CNP	zyklische Nukleotid-Phosphodiesterase; Marker für Oligodendroglia
CNTF	Ciliary neurotrophic factor; Wachstumsfaktor
Cx 32 und 45	Connexine 32 und 45; Gap-Junction-Proteine auf Oligodendrozyten
CXCL 1	Chemokin, beeinflusst Zellmigration
CXCR 2	Rezeptor für CXCL 1

Dbx 1 und 2	Klasse-I Homöo-Domänen-Transkriptionsfaktoren in den neuroepithelialen Domänen des Neuralrohres
DM-20	Splicing-Variante des Proteolipidproteins; Marker für Oligodendrozyten-Precursoren
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dsl-1	Dorsalin-1; Mitglied der TGF- β -Genfamilie; spezifisch für dorsale Segmente des Neuralrohres
ECM	Extrazelluläre Matrix
En 1	Entwicklungskontrollgen
Evx 1/2	Entwicklungskontrollgene
FP	Floor plate, Bodenplatte
GalC	Galaktocerebrosid; wichtiges Myelin-Glykolipid
GD 3	Gangliosid GD3; früher Oligodendroglia-Marker
GGF	Glial growth factor; Wachstumsfaktor aus der Gruppe der Neureguline
GH	Growth hormone; Wachstumshormon, beeinflusst Proliferation und Reifung von Gliazellen
GT3	Gangliosid GT3; Reaktionspartner für mAk A2B5
Hes	Hairy/enhancer of split; Repressor für bHLH-Proteine
HGF	Hepatocyte growth factor; Wachstumsfaktor
IGF-I	Insulin-like growth factor I; Wachstumsfaktor

IGFBP	IGF-bindende Proteine; blockieren IGF-Wirkung, negative Wirkung auf Oligodendrozyten-Differenzierung
IL-2 und 6	Interleukin 2 und 6, Wachstumsfaktoren
Irx 3	Klasse-I Homöo-Domänen Transkriptionsfaktor in den neuroepithelialen Domänen des Neuralrohres
Isl 1	Entwicklungskontrollgen
JAK/STAT	Janus kinase/signal transducers and activators of transcription; Transkriptions-Signalweg
LB1	Antikörper zum GD3-Nachweis
LIF	Leukemia inhibitory factor; Wachstumsfaktor
MAG	Myelin-assoziiertes Glykoprotein; Myelinprotein
mAk A2B5	monoklonaler Antikörper A2B5; Marker für unreife Oligodendrozytenformen
mAk O1 und 4	monoklonale Antikörper O1 und O4; Ak, die an Oberflächenmoleküle auf Oligodendrozyten-Precursoren binden
mAk R	monoklonaler Antikörper R; bindet an Oberflächenmoleküle auf Oligodendrozyten-Precursoren
MBP	basisches Myelinprotein; eines der Hauptmyelinproteine
MOBP	basisches Myelin-assoziiertes Oligodendrozytenprotein; kleines basisches Myelinprotein
MOG	Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein; Myelinprotein
MOSP	Myelin/Oligodendrozytenspezifisches Protein; Myelinprotein

mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
NCAM	neuronales Zelladhäsionsmolekül
Nestin	Intermediär-Filament-Protein; Marker für Oligodendrozyten-Precursoren
NG2	Proteoglykan NG2; Marker für Oligodendrozyten-Progenitoren
Ngn	Neurogenin
NI 35/250	Proteine auf differenzierten Oligodendrozyten
Nkx	Klasse-II Homöo-Domänen Transkriptionsfaktoren in den neuroepithelialen Domänen des Neuralrohres
NT-3	Neurotrophin-3; Wachstumsfaktor
O-2A	bipotente Progenitorzelle, kann sich zu Oligodendrozyten oder Typ-2-Astrozyten entwickeln; nur in-vitro vorkommend
Olig 1/2	bHLH-Proteine; wichtige Aufgaben bei Regulation der Oligodendrozyten-Entstehung; früheste Marker der Zelllinie
OLP	Oligodendrozyten-Precursorzelle
OMgp	Oligodendrozyten-Myelin-Glykoprotein; Myelinprotein
OSP	Oligodendrozyten-spezifisches Protein; drittgrößte Myelinprotein-Fraktion
p0 – 3	neuroepitheliale Domänen im ventralen Neuralrohr, die bestimmte Arten von Neuronen hervorbringen
P 2	kleines basisches Myelinprotein

Pax 3, 6 und 7	Klasse-I Homöo-Domänen-Transkriptionsfaktoren; in den neuroepithelialen Domänen des Neuralrohres
p. c.	post conceptionem
PDGF	Platelet derived growth factor; wichtiger Wachstumsfaktor für die Oligodendrozyten-Entwicklung
PDGFR- α	α -Rezeptor für den platelet derived growth factor; wichtiger Marker für frühe Oligodendrozyten-Vorläuferzellen
PLP	Proteolipidprotein; wichtigstes Myelinprotein
pMN	Motoneuron-Progenitor-Domäne im ventralen Neuralrohr
POA	Pro-Oligodendroblast-Antigen; sulfatiertes Zelloberflächen-Antigen; reagiert mit mAk O4
Pre-GD3	frühestes Differenzierungsstadium der Oligodendroglia
PSA-NCAM	polysialylierte Form des neuronalen Zelladhäsionsmoleküls; im Embryonalstadium vorkommend
R24	Antikörper zum GD3-Nachweis
RIP-Antigen	Antigen auf unreifen und reifen Oligodendrozyten
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion
SCIP	Transkriptionsfaktor; auf Oligodendrozyten-Precursoren nachweisbar
SDS-PAGE	Natrium-Dodecyl-Phosphat Polyacrylamidgelelektrophorese
Sema	Semaphorine; Einflussfaktoren auf Migration

Smad	Sma-Mad-homolog Transkriptionsfaktor
Shh	Sonic hedgehog; Genort für den wichtigsten Induktionsfaktor der dorsoventralen Segmentierung des Neuralrohres
Sim 1	Entwicklungskontrollgen
Sul	Sulfatide; sulfatierte Myelinglykolipide
SVZ	Subventrikularzone; germinale Zone im embryonalen ZNS
T ₃	Trijodthyronin; Schilddrüsenhormon, beeinflusst Differenzierung von Oligodendrozyten sowie Myelinisierung
TGF-β	Transforming growth factor β; Wachstumsfaktor
TN-C	Tenascin-C; Glykoprotein in der extrazellulären Matrix
Vim	Vimentin, Intermediärfilamentprotein
VZ	Ventrikularzone; germinale Zone im embryonalen ZNS
ZNS	zentrales Nervensystem

IV. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Literatur aus vielen aktuellen Forschungsarbeiten zur Entwicklung der Oligodendrozyten und der dabei einwirkenden Faktoren während der embryonalen und frühen postnatalen Phase gesammelt und kritisch ausgewertet. Die Neuronen und Gliazellen des ZNS entstehen im sich entwickelnden Neuralrohr aus multi- bzw. pluripotenten neuroepithelialen Stammzellen. Dabei ist die Genese dieser unterschiedlichen Zellarten einer strengen zeitlichen Regulation unterworfen: zunächst bildet sich die Radialglia aus, die als Leitschiene für die Neuronenmigration fungiert. Nachfolgend entwickeln sich Neuronen, Astrozyten und zuletzt die Oligodendrozyten. Die Ursprungsorte dieser myelinbildenden Zellen sind die ventrikulären bzw. subventrikulären Zonen im ventralen Neuroepithel. Die Hochregulation von Sonic hedgehog, einem Signalprotein, welches von der mesodermalen Chorda dorsalis bzw. der Prächordalplatte exprimiert wird, spielt dabei eine entscheidende Rolle. Es bedingt sowohl die dorsoventrale Segmentierung des Neuralrohres als auch die Entstehung der ersten Oligodendrozyten-Precursorzellen in Interaktion mit einer Vielzahl anderer Einflussfaktoren. Von ihren Ursprungsorten aus besiedeln die Zellen die gesamte weiße und, in geringerem Maße, auch die graue Substanz des ZNS. Dabei müssen teilweise beträchtliche Distanzen überwunden werden. Auch hier ist wiederum das ungestörte Zusammenspiel vieler Faktoren, z.B. Moleküle der extrazellulären Matrix, Zelladhäsionsmoleküle und sekretorische Proteine, erforderlich, um eine physiologische Verteilung der Oligodendrozyten-Vorläuferzellen zu gewährleisten. Zeitgleich entwickeln sich die Precursorzellen über eine Reihe von Differenzierungsstadien weiter bis hin zum reifen, myelinproduzierenden Oligodendrozyten. Über den Nachweis stadienspezifischer Markermoleküle lassen sich die verschiedenen Phasen unterscheiden. Die Differenzierungs- und

Proliferationsvorgänge unterliegen ebenfalls der Kontrolle vieler Regulationsmechanismen.

Untersuchungen aus jüngerer Zeit zeigten u.a. die Fähigkeit von bereits determinierten Oligodendrozyten-Precursorzellen auf, sich unter bestimmten Bedingungen zu Stammzellen zurück zu entwickeln. Außerdem fanden sich in jüngsten Studien vermehrt Hinweise auf eine wesentlich engere Verflechtung von Gliazellen und Neuronen als bislang angenommen.

Summary

ORIGIN, DEVELOPMENT AND DIFFERENTIATION OF OLIGODENDROCYTES

This thesis reviews recent literature on development of oligodendrocytes during embryogenesis and early postnatal life, and the influencing factors. In the developing neural tube neurons and glial cells originate from multi- or pluripotent neuroepithelial stem cells. The development of the different cells is strictly temporally regulated. The first cells to appear are radial glia, followed by neurons, astrocytes and finally oligodendrocytes. The sites of origin of these myelin forming cells are the ventricular and subventricular zones within the ventral neuroepithelial regions. Sonic hedgehog, a signalling protein expressed by the notochord and the prechordal plate plays a crucial role in this process. Together with many other factors, it influences the dorsoventral patterning and the emergence of the first oligodendrocyte precursor cells. These cells migrate away from their sites of origin and populate the developing white and grey matter of the CNS. This process again is influenced by many cues, e.g. the extracellular matrix, cell adhesion molecules and secreted proteins. At the same time the oligodendrocyte precursor cells begin to proliferate and go through several stages of differentiation under the control of numerous regulatory mechanisms. These distinct phenotypic stages of differentiation are correlated to the expression of a number of specific biochemical marker molecules within the oligodendrocytes and on their surfaces.

Recent research revealed the ability of differentiated oligodendrocyte precursor cells to switch back to the stem cell stage. In addition there is evidence from most recent studies for a very close entwinement of glial cells and neurons.

V. Literaturliste

1. Agius E, Soukkarieh C, Danesin C, Kan P, Takebayashi H, Soula C et al. Converse control of oligodendrocyte and astrocyte lineage development by Sonic hedgehog in the chick spinal cord. *Dev.Biol.* 270: 308-21; 2004.
2. Alberta JA, Park SK, Mora J, Yuk D, Pawlitzky I, Iannarelli P et al. Sonic hedgehog is required during an early phase of oligodendrocyte development in mammalian brain. *Mol.Cell Neurosci.* 18: 434-41; 2001.
3. Almazan G, Honegger P, Matthieu JM. Triiodothyronine stimulation of oligodendroglial differentiation and myelination. A developmental study. *Dev.Neurosci.* 7: 45-54; 1985.
4. Altaba A. Combinatorial Gli gene function in floor plate and neuronal inductions by Sonic hedgehog. *Development* 125: 2203-12; 1998.
5. Amiguet P, Gardinier MV, Zanetta JP, Matthieu JM. Purification and partial structural and functional characterization of mouse myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *J Neurochem.* 58: 1676-82; 1992.
6. Amor S, Groome N, Linington C, Morris MM, Dornmair K, Gardinier MV et al. Identification of epitopes of myelin oligodendrocyte glycoprotein for the induction of experimental allergic encephalomyelitis in SJL and Biozzi AB/H mice. *J Immunol.* 153: 4349-56; 1994.
7. Armstrong RC, Harvath L, Dubois-Dalcq ME. Type 1 astrocytes and oligodendrocyte-type 2 astrocyte glial progenitors migrate toward distinct molecules. *J Neurosci.Res.* 27: 400-7; 1990.
8. Asakura K, Hunter SF, Rodriguez M. Effects of transforming growth factor-beta and platelet-derived growth factor on oligodendrocyte precursors: insights gained from a neuronal cell line. *J Neurochem.* 68: 2281-90; 1997.
9. Baas D, Bourbeau D, Sarlieve LL, Ittel ME, Dussault JH, Puymirat J. Oligodendrocyte maturation and progenitor cell proliferation are independently regulated by thyroid hormone. *Glia* 19: 324-32; 1997.
10. Balasubramaniyan V, Timmer N, Kust B, Boddeke E, Copray S. Transient expression of Olig1 initiates the differentiation of neural stem cells into oligodendrocyte progenitor cells. *Stem Cells* 22: 878-82; 2004.

11. Bansal R, Kumar M, Murray K, Morrison RS, Pfeiffer SE. Regulation of FGF receptors in the oligodendrocyte lineage. *Mol.Cell Neurosci.* 7: 263-75; 1996.
12. Bansal R, Stefansson K, Pfeiffer SE. Prooligodendroblast antigen (POA), a developmental antigen expressed by A007/O4-positive oligodendrocyte progenitors prior to the appearance of sulfatide and galactocerebroside. *J.Neurochem.* 58: 2221-9; 1992.
13. Bansal R, Warrington AE, Gard AL, Ranscht B, Pfeiffer SE. Multiple and novel specificities of monoclonal antibodies O1, O4, and R-mAb used in the analysis of oligodendrocyte development. *J Neurosci.Res.* 24: 548-57; 1989.
14. Barres BA, Hart IK, Coles HS, Burne JF, Voyvodic JT, Richardson WD et al. Cell death and control of cell survival in the oligodendrocyte lineage. *Cell* 70: 31-46; 1992.
15. Barres BA, Lazar MA, Raff MC. A novel role for thyroid hormone, glucocorticoids and retinoic acid in timing oligodendrocyte development. *Development* 120: 1097-108; 1994.
16. Barres BA, Raff MC. Proliferation of oligodendrocyte precursor cells depends on electrical activity in axons. *Nature* 361: 258-60; 1993.
17. Barres BA, Raff MC. Control of oligodendrocyte number in the developing rat optic nerve. *Neuron* 12: 935-42; 1994.
18. Barres BA, Raff MC, Gaese F, Bartke I, Dechant G, Barde YA. A crucial role for neurotrophin-3 in oligodendrocyte development. *Nature* 367: 371-5; 1994.
19. Barres BA, Schmid R, Sendtner M, Raff MC. Multiple extracellular signals are required for long-term oligodendrocyte survival. *Development* 118: 283-95; 1993.
20. Bartlett WP, Li XS, Williams M. Expression of IGF-1 mRNA in the murine subventricular zone during postnatal development. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 12: 285-91; 1992.
21. Barton DE, Arquint M, Roder J, Dunn R, Francke U. The myelin-associated glycoprotein gene: mapping to human chromosome 19 and mouse chromosome 7 and expression in quivering mice. *Genomics* 1: 107-12; 1987.
22. Bartsch U, Faissner A, Trotter J, Dorries U, Bartsch S, Mohajeri H et al. Tenascin demarcates the boundary between the myelinated and

- nonmyelinated part of retinal ganglion cell axons in the developing and adult mouse. *J Neurosci.* 14: 4756-68; 1994.
23. Basler K, Edlund T, Jessell TM, Yamada T. Control of cell pattern in the neural tube: regulation of cell differentiation by dorsalin-1, a novel TGF beta family member. *Cell* 73: 687-702; 1993.
 24. Baumann N, Pham-Dinh D. Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev.* 81: 871-927; 2001.
 25. Benveniste EN, Herman PK, Whitaker JN. Myelin basic protein-specific RNA levels in interleukin-2-stimulated oligodendrocytes. *J Neurochem.* 49: 1274-9; 1987.
 26. Benveniste EN, Merrill JE. Stimulation of oligodendroglial proliferation and maturation by interleukin-2. *Nature* 321: 610-3; 1986.
 27. Berger T, Frotscher M. Distribution and morphological characteristics of oligodendrocytes in the rat hippocampus in situ and in vitro: an immunocytochemical study with the monoclonal Rip antibody. *J.Neurocytol.* 23: 61-74; 1994.
 28. Besnard F, Lawrence D, Sensenbrenner M, Labourdette G. [Modulation, by transforming growth factor beta (TGF beta), of the mitogenic effect of fibroblast growth factor (FGF) on rat oligodendrocytes in culture]. *C.R.Acad.Sci.III* 308: 287-92; 1989.
 29. Birling MC, Price J. A study of the potential of the embryonic rat telencephalon to generate oligodendrocytes. *Dev.Biol.* 193: 100-13; 1998.
 30. Birling MC, Tait S, Hardy RJ, Brophy PJ. A novel rat tetraspan protein in cells of the oligodendrocyte lineage. *J Neurochem.* 73: 2600-8; 1999.
 31. Bloch B, Popovici T, Levin MJ, Tuil D, Kahn A. Transferrin gene expression visualized in oligodendrocytes of the rat brain by using in situ hybridization and immunohistochemistry. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 82: 6706-10; 1985.
 32. Bogler O, Wren D, Barnett SC, Land H, Noble M. Cooperation between two growth factors promotes extended self-renewal and inhibits differentiation of oligodendrocyte-type-2 astrocyte (O-2A) progenitor cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 87: 6368-72; 1990.
 33. Bongarzone ER, Howard SG, Schonmann V, Campagnoni AT. Identification of the dopamine D3 receptor in oligodendrocyte precursors: potential role in regulating differentiation and myelin formation. *J.Neurosci.* 18: 5344-53; 1998.

34. Bonni A, Sun Y, Nadal-Vicens M, Bhatt A, Frank DA, Rozovsky I et al. Regulation of gliogenesis in the central nervous system by the JAK-STAT signaling pathway. *Science* 278: 477-83; 1997.
35. Bosio A, Binczek E, Stoffel W. Functional breakdown of the lipid bilayer of the myelin membrane in central and peripheral nervous system by disrupted galactocerebroside synthesis. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93: 13280-5; 1996.
36. Briscoe J, Ericson J. Specification of neuronal fates in the ventral neural tube. *Curr.Opin.Neurobiol.* 11: 43-9; 2001.
37. Briscoe J, Pierani A, Jessell TM, Ericson J. A homeodomain protein code specifies progenitor cell identity and neuronal fate in the ventral neural tube. *Cell* 101: 435-45; 2000.
38. Bronstein JM, Micevych PE, Chen K. Oligodendrocyte-specific protein (OSP) is a major component of CNS myelin. *J.Neurosci.Res.* 50: 713-20; 1997.
39. Bunge MB, Bunge RP, Ris H. Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in adult cat spinal cord. *J Biophys.Biochem.Cytol.* 10: 67-94; 1961.
40. Burne JF, Staple JK, Raff MC. Glial cells are increased proportionally in transgenic optic nerves with increased numbers of axons. *J Neurosci.* 16: 2064-73; 1996.
41. Butt AM, Hornby MF, Kirvell S, Berry M. Platelet-derived growth factor delays oligodendrocyte differentiation and axonal myelination in vivo in the anterior medullary velum of the developing rat. *J Neurosci.Res.* 48: 588-96; 1997.
42. Butt AM, Ibrahim M, Ruge FM, Berry M. Biochemical subtypes of oligodendrocyte in the anterior medullary velum of the rat as revealed by the monoclonal antibody Rip. *Glia* 14: 185-97; 1995.
43. Cajal SR. Contribucion al conocimiento de la neuroglia del cerebra humano. *Trab.Lab.Invest.Biol.* 11: 255-315; 1913.
44. Calver AR, Hall AC, Yu WP, Walsh FS, Heath JK, Betsholtz C et al. Oligodendrocyte population dynamics and the role of PDGF in vivo. *Neuron* 20: 869-82; 1998.
45. Cameron-Curry P, Le Douarin NM. Oligodendrocyte precursors originate from both the dorsal and the ventral parts of the spinal cord. *Neuron* 15: 1299-310; 1995.

46. Cammer W, Zhang H. Carbonic anhydrase in distinct precursors of astrocytes and oligodendrocytes in the forebrains of neonatal and young rats. *Brain Res.Dev.Brain Res.* 67: 257-63; 1992.
47. Campagnoni AT, Macklin WB. Cellular and molecular aspects of myelin protein gene expression. *Mol.Neurobiol.* 2: 41-89; 1988.
48. Campagnoni AT, Pribyl TM, Campagnoni CW, Kampf K, Amur-Umarjee S, Landry CF et al. Structure and developmental regulation of Golli-mbp, a 105-kilobase gene that encompasses the myelin basic protein gene and is expressed in cells in the oligodendrocyte lineage in the brain. *J.Biol.Chem.* 268: 4930-8; 1993.
49. Canoll PD, Kraemer R, Teng KK, Marchionni MA, Salzer JL. GGF/neuregulin induces a phenotypic reversion of oligodendrocytes. *Mol.Cell Neurosci.* 13: 79-94; 1999.
50. Canoll PD, Musacchio JM, Hardy R, Reynolds R, Marchionni MA, Salzer JL. GGF/neuregulin is a neuronal signal that promotes the proliferation and survival and inhibits the differentiation of oligodendrocyte progenitors. *Neuron* 17: 229-43; 1996.
51. Carnegie PR. Amino acid sequence of the basic protein of human brain myelin. *Biochem.J* 122: 65P; 1971.
52. Caroni P, Schwab ME. Antibody against myelin-associated inhibitor of neurite growth neutralizes nonpermissive substrate properties of CNS white matter. *Neuron* 1: 85-96; 1988.
53. Caroni P, Schwab ME. Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading. *J Cell Biol.* 106: 1281-8; 1988.
54. Carson MJ, Behringer RR, Brinster RL, McMorris FA. Insulin-like growth factor I increases brain growth and central nervous system myelination in transgenic mice. *Neuron* 10: 729-40; 1993.
55. Coetzee T, Fujita N, Dupree J, Shi R, Blight A, Suzuki K et al. Myelination in the absence of galactocerebroside and sulfatide: normal structure with abnormal function and regional instability. *Cell* 86: 209-19; 1996.
56. Cohen RI, Rottkamp DM, Maric D, Barker JL, Hudson LD. A role for semaphorins and neuropilins in oligodendrocyte guidance. *J Neurochem.* 85: 1262-78; 2003.
57. Curtis R, Cohen J, Fok-Seang J, Hanley MR, Gregson NA, Reynolds R et al. Development of macroglial cells in rat cerebellum. I. Use of antibodies

- to follow early in vivo development and migration of oligodendrocytes. *J.Neurocytol.* 17: 43-54; 1988.
58. D'Amelio F, Eng LF, Gibbs MA. Glutamine synthetase immunoreactivity is present in oligodendroglia of various regions of the central nervous system. *Glia* 3: 335-41; 1990.
 59. Dale JK, Vesque C, Lints TJ, Sampath TK, Furley A, Dodd J et al. Cooperation of BMP7 and SHH in the induction of forebrain ventral midline cells by prechordal mesoderm. *Cell* 90: 257-69; 1997.
 60. Davies JE, Miller RH. Local sonic hedgehog signaling regulates oligodendrocyte precursor appearance in multiple ventricular zone domains in the chick metencephalon. *Dev.Biol.* 233: 513-25; 2001.
 61. de Ferra F, Engh H, Hudson L, Kamholz J, Puckett C, Molineaux S et al. Alternative splicing accounts for the four forms of myelin basic protein. *Cell* 43: 721-7; 1985.
 62. della Gaspera B, Pham-Dinh D, Roussel G, Nussbaum JL, Dautigny A. Membrane topology of the myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *Eur.J Biochem.* 258: 478-84; 1998.
 63. Demerens C, Stankoff B, Logak M, Anglade P, Allinquant B, Couraud F et al. Induction of myelination in the central nervous system by electrical activity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93: 9887-92; 1996.
 64. Dermietzel R, Farooq M, Kessler JA, Althaus H, Hertzberg EL, Spray DC. Oligodendrocytes express gap junction proteins connexin32 and connexin45. *Glia* 20: 101-14; 1997.
 65. Dickinson PJ, Fanarraga ML, Griffiths IR, Barrie JM, Kyriakides E, Montague P. Oligodendrocyte progenitors in the embryonic spinal cord express DM-20. *Neuropathol.Appl.Neurobiol.* 22: 188-98; 1996.
 66. Diehl HJ, Schaich M, Budzinski RM, Stoffel W. Individual exons encode the integral membrane domains of human myelin proteolipid protein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 83: 9807-11; 1986.
 67. Dupree JL, Coetzee T, Blight A, Suzuki K, Popko B. Myelin galactolipids are essential for proper node of Ranvier formation in the CNS. *J Neurosci.* 18: 1642-9; 1998.
 68. Durand B, Gao FB, Raff M. Accumulation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27/Kip1 and the timing of oligodendrocyte differentiation. *EMBO J* 16: 306-17; 1997.

69. Dyer CA, Hickey WF, Geisert EE, Jr. Myelin/oligodendrocyte-specific protein: a novel surface membrane protein that associates with microtubules. *J.Neurosci.Res.* 28: 607-13; 1991.
70. Eccleston PA, Silberberg DH. Fibroblast growth factor is a mitogen for oligodendrocytes in vitro. *Brain Res.* 353: 315-8; 1985.
71. Echelard Y, Epstein DJ, St Jacques B, Shen L, Mohler J, McMahon JA et al. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. *Cell* 75: 1417-30; 1993.
72. Eitan S, Schwartz M. A transglutaminase that converts interleukin-2 into a factor cytotoxic to oligodendrocytes. *Science* 261: 106-8; 1993.
73. Eitan S, Zisling R, Cohen A, Belkin M, Hirschberg DL, Lotan M et al. Identification of an interleukin 2-like substance as a factor cytotoxic to oligodendrocytes and associated with central nervous system regeneration. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 89: 5442-6; 1992.
74. Eizenberg O, Faber-Elman A, Gottlieb E, Oren M, Rotter V, Schwartz M. Direct involvement of p53 in programmed cell death of oligodendrocytes. *EMBO J* 14: 1136-44; 1995.
75. Ellison JA, de Vellis J. Platelet-derived growth factor receptor is expressed by cells in the early oligodendrocyte lineage. *J.Neurosci.Res.* 37: 116-28; 1994.
76. Ericson J, Morton S, Kawakami A, Roelink H, Jessell TM. Two critical periods of Sonic Hedgehog signaling required for the specification of motor neuron identity. *Cell* 87: 661-73; 1996.
77. Ericson J, Rashbass P, Schedl A, Brenner-Morton S, Kawakami A, van H, V et al. Pax6 controls progenitor cell identity and neuronal fate in response to graded Shh signaling. *Cell* 90: 169-80; 1997.
78. Espinosa de los MA, Pena LA, de Vellis J. Does transferrin have a special role in the nervous system? *J Neurosci.Res.* 24: 125-36; 1989.
79. Eylar EH, Brostoff S, Hashim G, Caccam J, Burnett P. Basic A1 protein of the myelin membrane. The complete amino acid sequence. *J Biol.Chem.* 246: 5770-84; 1971.
80. Farrer RG, Quarles RH. GT3 and its O-acetylated derivative are the principal A2B5-reactive gangliosides in cultured O2A lineage cells and are down-regulated along with O-acetyl GD3 during differentiation to oligodendrocytes. *J.Neurosci.Res.* 57: 371-80; 1999.

81. Farsetti A, Mitsuhashi T, Desvergne B, Robbins J, Nikodem VM. Molecular basis of thyroid hormone regulation of myelin basic protein gene expression in rodent brain. *J Biol.Chem.* 266: 23226-32; 1991.
82. Filbin MT. The muddle with MAG. *Mol.Cell Neurosci.* 8: 84-92; 1996.
83. Fok-Seang J, Miller RH. Astrocyte precursors in neonatal rat spinal cord cultures. *J Neurosci.* 12: 2751-64; 1992.
84. Fok-Seang J, Miller RH. Distribution and differentiation of A2B5+ glial precursors in the developing rat spinal cord. *J Neurosci.Res.* 37: 219-35; 1994.
85. Fredman P, Magnani JL, Nirenberg M, Ginsburg V. Monoclonal antibody A2B5 reacts with many gangliosides in neuronal tissue. *Arch.Biochem.Biophys.* 233: 661-6; 1984.
86. Friedman B, Hockfield S, Black JA, Woodruff KA, Waxman SG. In situ demonstration of mature oligodendrocytes and their processes: an immunocytochemical study with a new monoclonal antibody, rip. *Glia* 2: 380-90; 1989.
87. Frost E, Kiernan BW, Faissner A, Ffrench-Constant C. Regulation of oligodendrocyte precursor migration by extracellular matrix: evidence for substrate-specific inhibition of migration by tenascin-C. *Dev.Neurosci.* 18: 266-73; 1996.
88. Fruttiger M, Karlsson L, Hall AC, Abramsson A, Calver AR, Bostrom H et al. Defective oligodendrocyte development and severe hypomyelination in PDGF-A knockout mice. *Development* 126: 457-67; 1999.
89. Gallo V, Armstrong RC. Developmental and growth factor-induced regulation of nestin in oligodendrocyte lineage cells. *J.Neurosci.* 15: 394-406; 1995.
90. Gallo V, Zhou JM, McBain CJ, Wright P, Knutson PL, Armstrong RC. Oligodendrocyte progenitor cell proliferation and lineage progression are regulated by glutamate receptor-mediated K⁺ channel block. *J.Neurosci.* 16: 2659-70; 1996.
91. Gao FB, Apperly J, Raff M. Cell-intrinsic timers and thyroid hormone regulate the probability of cell-cycle withdrawal and differentiation of oligodendrocyte precursor cells. *Dev.Biol.* 197: 54-66; 1998.
92. Gao FB, Durand B, Raff M. Oligodendrocyte precursor cells count time but not cell divisions before differentiation. *Curr.Biol.* 7: 152-5; 1997.

93. Garcion E, Faissner A, Ffrench-Constant C. Knockout mice reveal a contribution of the extracellular matrix molecule tenascin-C to neural precursor proliferation and migration. *Development* 128: 2485-96; 2001.
94. Gard AL, Burrell MR, Pfeiffer SE, Rudge JS, Williams WC. Astroglial control of oligodendrocyte survival mediated by PDGF and leukemia inhibitory factor-like protein. *Development* 121: 2187-97; 1995.
95. Gard AL, Pfeiffer SE. Glial cell mitogens bFGF and PDGF differentially regulate development of O4+GalC- oligodendrocyte progenitors. *Dev.Biol.* 159: 618-30; 1993.
96. Garwood J, Garcion E, Dobbertin A, Heck N, Calco V, Ffrench-Constant C et al. The extracellular matrix glycoprotein Tenascin-C is expressed by oligodendrocyte precursor cells and required for the regulation of maturation rate, survival and responsiveness to platelet-derived growth factor. *Eur.J Neurosci.* 20: 2524-40; 2004.
97. Goldman JE, Reynolds R. A reappraisal of ganglioside GD3 expression in the CNS. *Glia* 16: 291-5; 1996.
98. Goulding MD, Lumsden A, Gruss P. Signals from the notochord and floor plate regulate the region-specific expression of two Pax genes in the developing spinal cord. *Development* 117: 1001-16; 1993.
99. GrandPre T, Nakamura F, Vartanian T, Strittmatter SM. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein. *Nature* 403: 439-44; 2000.
100. Gravel M, Peterson J, Yong VW, Kottis V, Trapp B, Braun PE. Overexpression of 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase in transgenic mice alters oligodendrocyte development and produces aberrant myelination. *Mol.Cell Neurosci.* 7: 453-66; 1996.
101. Grinspan JB, Franceschini B. Platelet-derived growth factor is a survival factor for PSA-NCAM+ oligodendrocyte pre-progenitor cells. *J.Neurosci.Res.* 41: 540-51; 1995.
102. Habib AA, Marton LS, Allwardt B, Gulcher JR, Mikol DD, Hognason T et al. Expression of the oligodendrocyte-myelin glycoprotein by neurons in the mouse central nervous system. *J Neurochem.* 70: 1704-11; 1998.
103. Hajihosseini M, Tham TN, Dubois-Dalcq M. Origin of oligodendrocytes within the human spinal cord. *J.Neurosci.* 16: 7981-94; 1996.

104. Hall A, Giese NA, Richardson WD. Spinal cord oligodendrocytes develop from ventrally derived progenitor cells that express PDGF alpha-receptors. *Development* 122: 4085-94; 1996.
105. Hardesty I. On the development and nature of the neuroglia. *Am.J.Anat.* 3: 229-68; 1904.
106. Hardy RJ, Friedrich VL, Jr. Oligodendrocyte progenitors are generated throughout the embryonic mouse brain, but differentiate in restricted foci. *Development* 122: 2059-69; 1996.
107. Hart IK, Richardson WD, Bolsover SR, Raff MC. PDGF and intracellular signaling in the timing of oligodendrocyte differentiation. *J.Cell Biol.* 109: 3411-7; 1989.
108. Hojo M, Ohtsuka T, Hashimoto N, Gradwohl G, Guillemot F, Kageyama R. Glial cell fate specification modulated by the bHLH gene Hes5 in mouse retina. *Development* 127: 2515-22; 2000.
109. Holz A, Schwab ME. Developmental expression of the myelin gene MOBP in the rat nervous system. *J.Neurocytol.* 26: 467-77; 1997.
110. Hosoya T, Takizawa K, Nitta K, Hotta Y. glial cells missing: a binary switch between neuronal and glial determination in Drosophila. *Cell* 82: 1025-36; 1995.
111. Hynes M, Poulsen K, Tessier-Lavigne M, Rosenthal A. Control of neuronal diversity by the floor plate: contact-mediated induction of midbrain dopaminergic neurons. *Cell* 80: 95-101; 1995.
112. Ibarrola N, Rodriguez-Pena A. Hypothyroidism coordinately and transiently affects myelin protein gene expression in most rat brain regions during postnatal development. *Brain Res.* 752: 285-93; 1997.
113. Jarjour AA, Kennedy TE. Oligodendrocyte precursors on the move: mechanisms directing migration. *Neuroscientist.* 10: 99-105; 2004.
114. Jarjour AA, Manitt C, Moore SW, Thompson KM, Yuh SJ, Kennedy TE. Netrin-1 is a chemorepellent for oligodendrocyte precursor cells in the embryonic spinal cord. *J Neurosci.* 23: 3735-44; 2003.
115. Jessell TM. Neuronal specification in the spinal cord: inductive signals and transcriptional codes. *Nat.Rev.Genet.* 1: 20-9; 2000.
116. Johe KK, Hazel TG, Muller T, Dugich-Djordjevic MM, McKay RD. Single factors direct the differentiation of stem cells from the fetal and adult central nervous system. *Genes Dev.* 10: 3129-40; 1996.

117. Jones BW, Fetter RD, Tear G, Goodman CS. glial cells missing: a genetic switch that controls glial versus neuronal fate. *Cell* 82: 1013-23; 1995.
118. Jung-Testas I, Schumacher M, Robel P, Baulieu EE. Actions of steroid hormones- and growth factors on glial cells of the central and peripheral nervous system. *J Steroid Biochem.Mol.Biol.* 48: 145-54; 1994.
119. Kahn MA, Kumar S, Liebl D, Chang R, Parada LF, de Vellis J. Mice lacking NT-3, and its receptor TrkC, exhibit profound deficiencies in CNS glial cells. *Glia* 26: 153-65; 1999.
120. Kessaris N, Pringle N, Richardson WD. Ventral neurogenesis and the neuron-glial switch. *Neuron* 31: 677-80; 2001.
121. Kidd GJ, Hauer PE, Trapp BD. Axons modulate myelin protein messenger RNA levels during central nervous system myelination in vivo. *J Neurosci.Res.* 26: 409-18; 1990.
122. Klugmann M, Schwab MH, Puhlhofer A, Schneider A, Zimmermann F, Griffiths IR et al. Assembly of CNS myelin in the absence of proteolipid protein. *Neuron* 18: 59-70; 1997.
123. Knapp PE, Maderspach K, Hauser KF. Endogenous opioid system in developing normal and jimpy oligodendrocytes: mu and kappa opioid receptors mediate differential mitogenic and growth responses. *Glia* 22: 189-201; 1998.
124. Kuhl NM, De Keyser J, De Vries H, Hoekstra D. Insulin-like growth factor binding proteins-1 and -2 differentially inhibit rat oligodendrocyte precursor cell survival and differentiation in vitro. *J Neurosci.Res.* 69: 207-16; 2002.
125. Kuhl NM, Hoekstra D, De Vries H, De Keyser J. Insulin-like growth factor-binding protein 6 inhibits survival and differentiation of rat oligodendrocyte precursor cells. *Glia* 44: 91-101; 2003.
126. Kuhlbrodt K, Herbarth B, Sock E, Hermans-Borgmeyer I, Wegner M. Sox10, a novel transcriptional modulator in glial cells. *J Neurosci.* 18: 237-50; 1998.
127. Kunzelmann P, Blümcke I, Traub O, Dermietzel R, Willecke K. Coexpression of connexin45 and -32 in oligodendrocytes of rat brain. *J Neurocytol.* 26: 17-22; 1997.
128. Lebar R, Boutry JM, Vincent C, Robineaux R, Voisin GA. Studies on autoimmune encephalomyelitis in the guinea pig. II. An in vitro

- investigation on the nature, properties, and specificity of the serum-demyelinating factor. *J Immunol.* 116: 1439-46; 1976.
129. Lebar R, Lubetzki C, Vincent C, Lombrail P, Boutry JM. The M2 autoantigen of central nervous system myelin, a glycoprotein present in oligodendrocyte membrane. *Clin.Exp.Immunol.* 66: 423-34; 1986.
 130. Leber SM, Breedlove SM, Sanes JR. Lineage, arrangement, and death of clonally related motoneurons in chick spinal cord. *J Neurosci.* 10: 2451-62; 1990.
 131. Lees MB, Chao BH, Lin LF, Samiullah M, Laursen RA. Amino acid sequence of bovine white matter proteolipid. *Arch.Biochem.Biophys.* 226: 643-56; 1983.
 132. Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell* 60: 585-95; 1990.
 133. Levison SW, Chuang C, Abramson BJ, Goldman JE. The migrational patterns and developmental fates of glial precursors in the rat subventricular zone are temporally regulated. *Development* 119: 611-22; 1993.
 134. Levison SW, Goldman JE. Both oligodendrocytes and astrocytes develop from progenitors in the subventricular zone of postnatal rat forebrain. *Neuron* 10: 201-12; 1993.
 135. Li C, Trapp B, Ludwin S, Peterson A, Roder J. Myelin associated glycoprotein modulates glia-axon contact in vivo. *J Neurosci.Res.* 51: 210-7; 1998.
 136. Li C, Tropak MB, Gerlai R, Clapoff S, Abramow-Newerly W, Trapp B et al. Myelination in the absence of myelin-associated glycoprotein. *Nature* 369: 747-50; 1994.
 137. Li J, Hertzberg EL, Nagy JJ. Connexin32 in oligodendrocytes and association with myelinated fibers in mouse and rat brain. *J Comp Neurol.* 379: 571-91; 1997.
 138. Lin JC, Cepko CL. Biphasic dispersion of clones containing Purkinje cells and glia in the developing chick cerebellum. *Dev.Biol.* 211: 177-97; 1999.
 139. Litingtung Y, Chiang C. Specification of ventral neuron types is mediated by an antagonistic interaction between Shh and Gli3. *Nat.Neurosci.* 3: 979-85; 2000.

140. Lu QR, Yuk D, Alberta JA, Zhu Z, Pawlitzky I, Chan J et al. Sonic hedgehog--regulated oligodendrocyte lineage genes encoding bHLH proteins in the mammalian central nervous system. *Neuron* 25: 317-29; 2000.
141. Luskin MB, Pearlman AL, Sanes JR. Cell lineage in the cerebral cortex of the mouse studied in vivo and in vitro with a recombinant retrovirus. *Neuron* 1: 635-47; 1988.
142. Macklin WB, Campagnoni CW, Deininger PL, Gardinier MV. Structure and expression of the mouse myelin proteolipid protein gene. *J Neurosci.Res.* 18: 383-94; 1987.
143. Manitt C, Kennedy TE. Where the rubber meets the road: netrin expression and function in developing and adult nervous systems. *Prog.Brain Res.* 137: 425-42; 2002.
144. Marti E, Takada R, Bumcrot DA, Sasaki H, McMahon AP. Distribution of Sonic hedgehog peptides in the developing chick and mouse embryo. *Development* 121: 2537-47; 1995.
145. McKinnon RD, Matsui T, Dubois-Dalcq M, Aaronson SA. FGF modulates the PDGF-driven pathway of oligodendrocyte development. *Neuron* 5: 603-14; 1990.
146. McMahon AP. Neural patterning: the role of Nkx genes in the ventral spinal cord. *Genes Dev.* 14: 2261-4; 2000.
147. McMahon JA, Takada S, Zimmerman LB, Fan CM, Harland RM, McMahon AP. Noggin-mediated antagonism of BMP signaling is required for growth and patterning of the neural tube and somite. *Genes Dev.* 12: 1438-52; 1998.
148. McMorris FA, Dubois-Dalcq M. Insulin-like growth factor I promotes cell proliferation and oligodendroglial commitment in rat glial progenitor cells developing in vitro. *J.Neurosci.Res.* 21: 199-209; 1988.
149. McMorris FA, McKinnon RD. Regulation of oligodendrocyte development and CNS myelination by growth factors: prospects for therapy of demyelinating disease. *Brain Pathol.* 6: 313-29; 1996.
150. McTigue DM, Horner PJ, Stokes BT, Gage FH. Neurotrophin-3 and brain-derived neurotrophic factor induce oligodendrocyte proliferation and myelination of regenerating axons in the contused adult rat spinal cord. *J Neurosci.* 18: 5354-65; 1998.

151. Mehler MF, Mabie PC, Zhang D, Kessler JA. Bone morphogenetic proteins in the nervous system. *Trends Neurosci.* 20: 309-17; 1997.
152. Messersmith EK, Leonardo ED, Shatz CJ, Tessier-Lavigne M, Goodman CS, Kolodkin AL. Semaphorin III can function as a selective chemorepellent to pattern sensory projections in the spinal cord. *Neuron* 14: 949-59; 1995.
153. Meyer-Franke A, Barres B. Axon myelination. Myelination without myelin-associated glycoprotein. *Curr.Biol.* 4: 847-50; 1994.
154. Mikol DD, Alexakos MJ, Bayley CA, Lemons RS, Le Beau MM, Stefansson K. Structure and chromosomal localization of the gene for the oligodendrocyte-myelin glycoprotein. *J Cell Biol.* 111: 2673-9; 1990.
155. Mikol DD, Gulcher JR, Stefansson K. The oligodendrocyte-myelin glycoprotein belongs to a distinct family of proteins and contains the HNK-1 carbohydrate. *J Cell Biol.* 110: 471-9; 1990.
156. Miller RH. Oligodendrocyte origins. *Trends Neurosci.* 19: 92-6; 1996.
157. Milner R, Anderson HJ, Rippon RF, McKay JS, Franklin RJ, Marchionni MA et al. Contrasting effects of mitogenic growth factors on oligodendrocyte precursor cell migration. *Glia* 19: 85-90; 1997.
158. Milner R, Edwards G, Streuli C, Ffrench-Constant C. A role in migration for the alpha V beta 1 integrin expressed on oligodendrocyte precursors. *J.Neurosci.* 16: 7240-52; 1996.
159. Miyazono K, ten Dijke P, Heldin CH. TGF-beta signaling by Smad proteins. *Adv.Immunol.* 75: 115-57; 2000.
160. Mizuguchi R, Sugimori M, Takebayashi H, Kosako H, Nagao M, Yoshida S et al. Combinatorial roles of olig2 and neurogenin2 in the coordinated induction of pan-neuronal and subtype-specific properties of motoneurons. *Neuron* 31: 757-71; 2001.
161. Montague P, Dickinson PJ, McCallion AS, Stewart GJ, Savioz A, Davies RW et al. Developmental expression of the murine Mobp gene. *J Neurosci.Res.* 49: 133-43; 1997.
162. Mori S, Leblond CP. Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young rats. *J Comp Neurol.* 139: 1-28; 1970.

163. Morita K, Sasaki H, Fujimoto K, Furuse M, Tsukita S. Claudin-11/OSP-based tight junctions of myelin sheaths in brain and Sertoli cells in testis. *J Cell Biol.* 145: 579-88; 1999.
164. Morrow T, Song MR, Ghosh A. Sequential specification of neurons and glia by developmentally regulated extracellular factors. *Development* 128: 3585-94; 2001.
165. Mudhar HS, Pollock RA, Wang C, Stiles CD, Richardson WD. PDGF and its receptors in the developing rodent retina and optic nerve. *Development* 118: 539-52; 1993.
166. Nakashima K, Yanagisawa M, Arakawa H, Kimura N, Hisatsune T, Kawabata M et al. Synergistic signaling in fetal brain by STAT3-Smad1 complex bridged by p300. *Science* 284: 479-82; 1999.
167. Nakazawa T, Tachi S, Aikawa E, Ihnuma M. Formation of the myelinated nerve fiber layer in the chicken retina. *Glia* 8: 114-21; 1993.
168. Nave KA, Lai C, Bloom FE, Milner RJ. Splice site selection in the proteolipid protein (PLP) gene transcript and primary structure of the DM-20 protein of central nervous system myelin. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 84: 5665-9; 1987.
169. Newman S, Saito M, Yu R. Biochemistry of myelin proteins and enzymes. In: Kettenmann H, Ransom B. (ed.) *Neuroglia.*; Oxford Univ. Press, New York, 535-54; 1995.
170. Nishiyama A, Chang A, Trapp BD. NG2+ glial cells: a novel glial cell population in the adult brain. *J.Neuropathol.Exp.Neurol.* 58: 1113-24; 1999.
171. Nishiyama A, Lin XH, Giese N, Heldin CH, Stallcup WB. Interaction between NG2 proteoglycan and PDGF alpha-receptor on O2A progenitor cells is required for optimal response to PDGF. *J.Neurosci.Res.* 43: 315-30; 1996.
172. Noguchi T. Effects of growth hormone on cerebral development: morphological studies. *Horm.Res.* 45: 5-17; 1996.
173. Novitsch BG, Chen AI, Jessell TM. Coordinate regulation of motor neuron subtype identity and pan-neuronal properties by the bHLH repressor Olig2. *Neuron* 31: 773-89; 2001.
174. Olivier C, Cobos I, Perez Villegas EM, Spassky N, Zalc B, Martinez S et al. Monofocal origin of telencephalic oligodendrocytes in the anterior

- entopeduncular area of the chick embryo. *Development* 128: 1757-69; 2001.
175. Ono K, Bansal R, Payne J, Rutishauser U, Miller RH. Early development and dispersal of oligodendrocyte precursors in the embryonic chick spinal cord. *Development* 121: 1743-54; 1995.
 176. Ono K, Fujisawa H, Hirano S, Norita M, Tsumori T, Yasui Y. Early development of the oligodendrocyte in the embryonic chick metencephalon. *J.Neurosci.Res.* 48: 212-25; 1997.
 177. Ono K, Tsumori T, Kishi T, Yokota S, Yasui Y. Developmental appearance of oligodendrocytes in the embryonic chick retina. *J Comp Neurol.* 398: 309-22; 1998.
 178. Ono K, Yasui Y, Rutishauser U, Miller RH. Focal ventricular origin and migration of oligodendrocyte precursors into the chick optic nerve. *Neuron* 19: 283-92; 1997.
 179. Orentas DM, Hayes JE, Dyer KL, Miller RH. Sonic hedgehog signaling is required during the appearance of spinal cord oligodendrocyte precursors. *Development* 126: 2419-29; 1999.
 180. Orentas DM, Miller RH. The origin of spinal cord oligodendrocytes is dependent on local influences from the notochord. *Dev.Biol.* 177: 43-53; 1996.
 181. Osterhout DJ, Wolven A, Wolf RM, Resh MD, Chao MV. Morphological differentiation of oligodendrocytes requires activation of Fyn tyrosine kinase. *J.Cell Biol.* 145: 1209-18; 1999.
 182. Otero GC, Merrill JE. Response of human oligodendrocytes to interleukin-2. *Brain Behav.Immun.* 11: 24-38; 1997.
 183. Parnavelas JG. Glial cell lineages in the rat cerebral cortex. *Exp.Neurol.* 156: 418-29; 1999.
 184. Pedraza L, Fidler L, Staugaitis SM, Colman DR. The active transport of myelin basic protein into the nucleus suggests a regulatory role in myelination. *Neuron* 18: 579-89; 1997.
 185. Penfield W. Neuroglia, normal and pathological. In: Penfield W. (ed.) *Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System.*; Paul B. Hoeber, New York, 423-79; 1932.

186. Perez Villegas EM, Olivier C, Spassky N, Poncet C, Cochard P, Zalc B et al. Early specification of oligodendrocytes in the chick embryonic brain. *Dev.Biol.* 216: 98-113; 1999.
187. Peyron F, Timsit S, Thomas JL, Kagawa T, Ikenaka K, Zalc B. In situ expression of PLP/DM-20, MBP, and CNP during embryonic and postnatal development of the jimpy mutant and of transgenic mice overexpressing PLP. *J.Neurosci.Res.* 50: 190-201; 1997.
188. Pfeiffer SE, Warrington AE, Bansal R. The oligodendrocyte and its many cellular processes. *Trends Cell Biol.* 3: 191-7; 1993.
189. Pham-Dinh D, Mattei MG, Nussbaum JL, Roussel G, Pontarotti P, Röckel N et al. Myelin/oligodendrocyte glycoprotein is a member of a subset of the immunoglobulin superfamily encoded within the major histocompatibility complex. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 90: 7990-4; 1993.
190. Placzek M, Yamada T, Tessier-Lavigne M, Jessell T, Dodd J. Control of dorsoventral pattern in vertebrate neural development: induction and polarizing properties of the floor plate. *Development Suppl* 2: 105-22; 1991.
191. Poncet C, Soula C, Trousse F, Kan P, Hirsinger E, Pourquie O et al. Induction of oligodendrocyte progenitors in the trunk neural tube by ventralizing signals: effects of notochord and floor plate grafts, and of sonic hedgehog. *Mech.Dev.* 60: 13-32; 1996.
192. Popko B. Myelin galactolipids: mediators of axon-glia interactions? *Glia* 29: 149-53; 2000.
193. Popot JL, Pham DD, Dautigny A. Major Myelin proteolipid: the 4-alpha-helix topology. *J Membr.Biol.* 120: 233-46; 1991.
194. Price J, Thurlow L. Cell lineage in the rat cerebral cortex: a study using retroviral-mediated gene transfer. *Development* 104: 473-82; 1988.
195. Pringle NP, Guthrie S, Lumsden A, Richardson WD. Dorsal spinal cord neuroepithelium generates astrocytes but not oligodendrocytes. *Neuron* 20: 883-93; 1998.
196. Pringle NP, Richardson WD. A singularity of PDGF alpha-receptor expression in the dorsoventral axis of the neural tube may define the origin of the oligodendrocyte lineage. *Development* 117: 525-33; 1993.
197. Pringle NP, Yu WP, Guthrie S, Roelink H, Lumsden A, Peterson AC et al. Determination of neuroepithelial cell fate: induction of the oligodendrocyte

- lineage by ventral midline cells and sonic hedgehog. *Dev.Biol.* 177: 30-42; 1996.
198. Pukel CS, Lloyd KO, Travassos LR, Dippold WG, Oettgen HF, Old LJ. GD3, a prominent ganglioside of human melanoma. Detection and characterisation by mouse monoclonal antibody. *J Exp.Med.* 155: 1133-47; 1982.
 199. Qian X, Shen Q, Goderie SK, He W, Capela A, Davis AA et al. Timing of CNS cell generation: a programmed sequence of neuron and glial cell production from isolated murine cortical stem cells. *Neuron* 28: 69-80; 2000.
 200. Quarles RH. Glycoproteins of myelin sheaths. *J Mol.Neurosci.* 8: 1-12; 1997.
 201. Raff MC. Glial cell diversification in the rat optic nerve. *Science* 243: 1450-5; 1989.
 202. Raff MC, Fields KL, Hakomori SI, Mirsky R, Pruss RM, Winter J. Cell-type-specific markers for distinguishing and studying neurons and the major classes of glial cells in culture. *Brain Res.* 174: 283-308; 1979.
 203. Raff MC, Mirsky R, Fields KL, Lisak RP, Dorfman SH, Silberberg DH et al. Galactocerebroside is a specific cell-surface antigenic marker for oligodendrocytes in culture. *Nature* 274: 813-6; 1978.
 204. Rajan P, McKay RD. Multiple routes to astrocytic differentiation in the CNS. *J Neurosci.* 18: 3620-9; 1998.
 205. Ranscht B, Clapshaw PA, Price J, Noble M, Seifert W. Development of oligodendrocytes and Schwann cells studied with a monoclonal antibody against galactocerebroside. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 79: 2709-13; 1982.
 206. Raper JA. Semaphorins and their receptors in vertebrates and invertebrates. *Curr.Opin.Neurobiol.* 10: 88-94; 2000.
 207. Reiser G, Kunzelmann U, Steinhilber G, Binmoller FJ. Generation of a monoclonal antibody against the myelin protein CNP (2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase) suitable for biochemical and for immunohistochemical investigations of CNP. *Neurochem.Res.* 19: 1479-85; 1994.
 208. Rickmann M, Wolff JR. S100 immunoreactivity in a subpopulation of oligodendrocytes and Ranvier's nodes of adult rat brain. *Neurosci.Lett.* 186: 13-6; 1995.

209. Rio Hortega DP. Histogenesis y evolucion normal; exodo y distribucion normal de la microglia. *Memor.Real.Soc.Esp.Hist.Nat.* 11: 213-68; 1921.
210. Rio Hortega DP. Tercera aportacion al conocimiento morfologico e interpretacion funcional de la oligodendroglia. *Memor.Real.Soc.Esp.Hist.Nat.* 14: 5-122; 1928.
211. Roach A, Boylan K, Horvath S, Prusiner SB, Hood LE. Characterization of cloned cDNA representing rat myelin basic protein: absence of expression in brain of shiverer mutant mice. *Cell* 34: 799-806; 1983.
212. Robertson WF. On a new method of obtaining a black reaction in certain tissue elements of the central nervous system (platinum method). *Scott.Med.Surg.J* 4: 23-30; 1899.
213. Roelink H, Augsburger A, Heemskerk J, Korzh V, Norlin S, Altaba A et al. Floor plate and motor neuron induction by vhh-1, a vertebrate homolog of hedgehog expressed by the notochord. *Cell* 76: 761-75; 1994.
214. Roelink H, Porter JA, Chiang C, Tanabe Y, Chang DT, Beachy PA et al. Floor plate and motor neuron induction by different concentrations of the amino-terminal cleavage product of sonic hedgehog autoproteolysis. *Cell* 81: 445-55; 1995.
215. Rowitch DH, Jacques B, Lee SM, Flax JD, Snyder EY, McMahon AP. Sonic hedgehog regulates proliferation and inhibits differentiation of CNS precursor cells. *J Neurosci.* 19: 8954-65; 1999.
216. Rutishauser U, Landmesser L. Polysialic acid in the vertebrate nervous system: a promoter of plasticity in cell-cell interactions. *Trends Neurosci.* 19: 422-7; 1996.
217. Salzer JL, Holmes WP, Colman DR. The amino acid sequences of the myelin-associated glycoproteins: homology to the immunoglobulin gene superfamily. *J Cell Biol.* 104: 957-65; 1987.
218. Sauvageot CM, Stiles CD. Molecular mechanisms controlling cortical gliogenesis. *Curr.Opin.Neurobiol.* 12: 244-9; 2002.
219. Scardigli R, Schuurmans C, Gradwohl G, Guillemot F. Crossregulation between Neurogenin2 and pathways specifying neuronal identity in the spinal cord. *Neuron* 31: 203-17; 2001.
220. Schaeren-Wiemers N, van der BP, Schwab ME. The UDP-galactose:ceramide galactosyltransferase: expression pattern in oligodendrocytes and Schwann cells during myelination and substrate preference for hydroxyceramide. *J Neurochem.* 65: 2267-78; 1995.

221. Schnorr B. Embryologie der Haustiere. Enke-Verlag, Stuttgart, 1989.
222. Schulte S, Stoffel W. Ceramide UDPgalactosyltransferase from myelinating rat brain: purification, cloning, and expression. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 90: 10265-9; 1993.
223. Shinar Y, McMorris FA. Developing oligodendroglia express mRNA for insulin-like growth factor-I, a regulator of oligodendrocyte development. *J Neurosci.Res.* 42: 516-27; 1995.
224. Simpson PB, Armstrong RC. Intracellular signals and cytoskeletal elements involved in oligodendrocyte progenitor migration. *Glia* 26: 22-35; 1999.
225. Small RK, Riddle P, Noble M. Evidence for migration of oligodendrocyte--type-2 astrocyte progenitor cells into the developing rat optic nerve. *Nature* 328: 155-7; 1987.
226. Smith JL, Schoenwolf GC. Notochordal induction of cell wedging in the chick neural plate and its role in neural tube formation. *J Exp.Zool.* 250: 49-62; 1989.
227. Spassky N, de Castro F, Le Bras B, Heydon K, Queraud-Lesaux F, Bloch-Gallego E et al. Directional guidance of oligodendroglial migration by class 3 semaphorins and netrin-1. *J Neurosci.* 22: 5992-6004; 2002.
228. Spassky N, Goujet-Zalc C, Parmantier E, Olivier C, Martinez S, Ivanova A et al. Multiple restricted origin of oligodendrocytes. *J.Neurosci.* 18: 8331-43; 1998.
229. Spassky N, Olivier C, Perez-Villegas E, Goujet-Zalc C, Martinez S, Thomas J et al. Single or multiple oligodendroglial lineages: a controversy. *Glia* 29: 143-8; 2000.
230. Sprinkle TJ. 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase, an oligodendrocyte-Schwann cell and myelin-associated enzyme of the nervous system. *Crit Rev.Neurobiol.* 4: 235-301; 1989.
231. Sternberger NH, Quarles RH, Itoyama Y, Webster HD. Myelin-associated glycoprotein demonstrated immunocytochemically in myelin and myelin-forming cells of developing rat. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 76: 1510-4; 1979.
232. Stoffel W, Schröder W, Hillen H, Deutzmann R. Analysis of the primary structure of the strongly hydrophobic brain myelin proteolipid apoprotein (lipophilin). Isolation and amino acid sequence determination of proteolytic fragments. *Hoppe Seylers.Z Physiol Chem.* 363: 1117-31; 1982.

233. Sugimoto Y, Taniguchi M, Yagi T, Akagi Y, Nojyo Y, Tamamaki N. Guidance of glial precursor cell migration by secreted cues in the developing optic nerve. *Development* 128: 3321-30; 2001.
234. Sun Y, Nadal-Vicens M, Misono S, Lin MZ, Zubiaga A, Hua X et al. Neurogenin promotes neurogenesis and inhibits glial differentiation by independent mechanisms. *Cell* 104: 365-76; 2001.
235. Tanaka H, Obata K. Developmental changes in unique cell surface antigens of chick embryo spinal motoneurons and ganglion cells. *Dev.Biol.* 106: 26-37; 1984.
236. Tanigaki K, Nogaki F, Takahashi J, Tashiro K, Kurooka H, Honjo T. Notch1 and Notch3 instructively restrict bFGF-responsive multipotent neural progenitor cells to an astroglial fate. *Neuron* 29: 45-55; 2001.
237. Tekki-Kessarlis N, Woodruff R, Hall AC, Gaffield W, Kimura S, Stiles CD et al. Hedgehog-dependent oligodendrocyte lineage specification in the telencephalon. *Development* 128: 2545-54; 2001.
238. Timsit S, Martinez S, Allinquant B, Peyron F, Puelles L, Zalc B. Oligodendrocytes originate in a restricted zone of the embryonic ventral neural tube defined by DM-20 mRNA expression. *J.Neurosci.* 15: 1012-24; 1995.
239. Trapp BD, Bernier L, Andrews SB, Colman DR. Cellular and subcellular distribution of 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase and its mRNA in the rat central nervous system. *J Neurochem.* 51: 859-68; 1988.
240. Trapp BD, Itoyama Y, MacIntosh TD, Quarles RH. P2 protein in oligodendrocytes and myelin of the rabbit central nervous system. *J Neurochem.* 40: 47-54; 1983.
241. Trousse F, Giess MC, Soula C, Ghandour S, Duprat AM, Cochard P. Notochord and floor plate stimulate oligodendrocyte differentiation in cultures of the chick dorsal neural tube. *J Neurosci.Res.* 41: 552-60; 1995.
242. Tsai HH, Frost E, To V, Robinson S, Ffrench-Constant C, Geertman R et al. The chemokine receptor CXCR2 controls positioning of oligodendrocyte precursors in developing spinal cord by arresting their migration. *Cell* 110: 373-83; 2002.
243. Tsai HH, Tessier-Lavigne M, Miller RH. Netrin 1 mediates spinal cord oligodendrocyte precursor dispersal. *Development* 130: 2095-105; 2003.

244. Umemori H, Sato S, Yagi T, Aizawa S, Yamamoto T. Initial events of myelination involve Fyn tyrosine kinase signalling. *Nature* 367: 572-6; 1994.
245. Vallstedt A, Muhr J, Pattyn A, Pierani A, Mendelsohn M, Sander M et al. Different levels of repressor activity assign redundant and specific roles to Nkx6 genes in motor neuron and interneuron specification. *Neuron* 31: 743-55; 2001.
246. van Straaten HW, Thors F, Wiertz-Hoessels L, Hekking J, Drukker J. Effect of a notochordal implant on the early morphogenesis of the neural tube and neuroblasts: histometrical and histological results. *Dev.Biol.* 110: 247-54; 1985.
247. Vartanian T, Fischbach G, Miller R. Failure of spinal cord oligodendrocyte development in mice lacking neuregulin. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 96: 731-5; 1999.
248. Virchow R. Über das granuliertes Aussehen der Wandungen der Gehirnventrikel. *Allg Z Psychiat* 3: 242-50; 1846.
249. Virchow R. Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre. A. Hirschwald, Berlin, 1858.
250. Walters SN, Morell P. Effects of altered thyroid states on myelinogenesis. *J Neurochem.* 36: 1792-801; 1981.
251. Wang C, Rougon G, Kiss JZ. Requirement of polysialic acid for the migration of the O-2A glial progenitor cell from neurohypophyseal explants. *J.Neurosci.* 14: 4446-57; 1994.
252. Wang S, Sdrulla AD, diSibio G, Bush G, Nofziger D, Hicks C et al. Notch receptor activation inhibits oligodendrocyte differentiation. *Neuron* 21: 63-75; 1998.
253. Warf BC, Fok-Seang J, Miller RH. Evidence for the ventral origin of oligodendrocyte precursors in the rat spinal cord. *J.Neurosci.* 11: 2477-88; 1991.
254. Webb A, Clark P, Skepper J, Compston A, Wood A. Guidance of oligodendrocytes and their progenitors by substratum topography. *J Cell Sci.* 108 (Pt 8): 2747-60; 1995.
255. Willard HF, Riordan JR. Assignment of the gene for myelin proteolipid protein to the X chromosome: implications for X-linked myelin disorders. *Science* 230: 940-2; 1985.

256. Woodruff RH, Tekki-Kessarlis N, Stiles CD, Rowitch DH, Richardson WD. Oligodendrocyte development in the spinal cord and telencephalon: common themes and new perspectives. *Int.J Dev.Neurosci.* 19: 379-85; 2001.
257. Yamada T, Pfaff SL, Edlund T, Jessell TM. Control of cell pattern in the neural tube: motor neuron induction by diffusible factors from notochord and floor plate. *Cell* 73: 673-86; 1993.
258. Yamada T, Placzek M, Tanaka H, Dodd J, Jessell TM. Control of cell pattern in the developing nervous system: polarizing activity of the floor plate and notochord. *Cell* 64: 635-47; 1991.
259. Yamamoto Y, Mizuno R, Nishimura T, Ogawa Y, Yoshikawa H, Fujimura H et al. Cloning and expression of myelin-associated oligodendrocytic basic protein. A novel basic protein constituting the central nervous system myelin. *J Biol.Chem.* 269: 31725-30; 1994.
260. Yan H, Rivkees SA. Hepatocyte growth factor stimulates the proliferation and migration of oligodendrocyte precursor cells. *J Neurosci.Res.* 69: 597-606; 2002.
261. Yang LJ, Zeller CB, Shaper NL, Kiso M, Hasegawa A, Shapiro RE et al. Gangliosides are neuronal ligands for myelin-associated glycoprotein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93: 814-8; 1996.
262. Yeh HJ, Ruit KG, Wang YX, Parks WC, Snider WD, Deuel TF. PDGF A-chain gene is expressed by mammalian neurons during development and in maturity. *Cell* 64: 209-16; 1991.
263. Yu WP, Collarini EJ, Pringle NP, Richardson WD. Embryonic expression of myelin genes: evidence for a focal source of oligodendrocyte precursors in the ventricular zone of the neural tube. *Neuron* 12: 1353-62; 1994.
264. Yuan X, Eisen AM, McBain CJ, Gallo V. A role for glutamate and its receptors in the regulation of oligodendrocyte development in cerebellar tissue slices. *Development* 125: 2901-14; 1998.
265. Zerlin M, Levison SW, Goldman JE. Early patterns of migration, morphogenesis, and intermediate filament expression of subventricular zone cells in the postnatal rat forebrain. *J.Neurosci.* 15: 7238-49; 1995.
266. Zhou Q, Choi G, Anderson DJ. The bHLH transcription factor Olig2 promotes oligodendrocyte differentiation in collaboration with Nkx2.2. *Neuron* 31: 791-807; 2001.

267. Zhou Q, Wang S, Anderson DJ. Identification of a novel family of oligodendrocyte lineage-specific basic helix-loop-helix transcription factors. *Neuron* 25: 331-43; 2000.

Danksagung

Herrn Prof. Wolfgang Schmahl gilt mein Dank für die Überlassung des Themas. Darüber hinaus danke ich ihm ganz besonders für die sehr persönliche Betreuung, die stets vorhandene Gesprächsbereitschaft und die aufmunternden Telefonate und e-Mails.

Hartmut danke ich für seine teils liebevolle, teils energische Motivationsarbeit, seine Korrektur- und Gestaltungsvorschläge sowie für die Lösung von so manchem Computerproblem.

Katharina danke ich für ihre Freundschaft und ihren unerschütterlichen Glauben in den erfolgreichen Abschluss dieses Projekts.

Bei meiner Familie und meinen Freunden bedanke ich mich für die Unterstützung.

Lebenslauf

Name: Katharina Huber

Geburtsdatum: 28. Oktober 1968

Geburtsort: Obergünzburg

Eltern: Siegfried und Annemarie Huber

Schulbildung: 1974 – 1978 Grundschule Friesenried
 1978 – 1980 Mariengymnasium Kaufbeuren
 1980 – 1984 Marienrealschule Kaufbeuren
Abschluss: Mittlere Reife
 1991 – 1995 Abendgymnasium für Berufstätige, München
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung: 1984 – 1986 Ausbildung zur Arzthelferin
 1987 – 1990 Ausbildung zur Krankenschwester

Studium: 1995 – 2001 Tiermedizin an der LMU München
Staatsexamen: 14. September 2001
Approbation: 1. Oktober 2001

Berufliche Tätigkeit: 1986 – 1987 Arzthelferin bei Dr. Hansen, Kaufbeuren
 1990 – 2000 Krankenschwester an der Chirurgischen
 Klinik der LMU, München
 Oktober 2001 – August 2004
 Assistenztierärztin bei Hans-Peter Muell,
 Stötten am Auerberg
 seit September 2004
 Assistenztierärztin bei Dr. Wolfgang Schuh,
 Blöcktach