

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Oligodendrozyten

### 1.1.1 Entwicklung

Das zentrale Nervensystem besteht aus drei Hauptklassen von Zellen neuronalen Ursprungs: den Neuronen, den Astrozyten und den Oligodendrozyten (Peters et al. 1990). All diese Zellen entstammen dem Neuroepithel des Neuralrohrs.

Im Jahre 1899 konnte W. Robertson erstmalig kleine Zellen mit Fortsätzen im ZNS lokalisieren (Robertson, 1899). Hierbei handelte es sich wahrscheinlich um die erste Beschreibung von Oligodendrozyten. Benannt wurden diese Zellen allerdings erst 1921 durch Pio del Rio Hortega (Hortega, 1921).

Offenbar gibt es verschiedene Vorläuferzelltypen. Es wird vermutet, dass Oligodendrozyten und Neurone auf eine gemeinsame Vorläuferzelle zurückgehen (He et al. 2001), sowie auch Astrozyten und Oligodendrozyten aus gemeinsamen Glioblasten entstehen (Rao und Mayer – Proschel, 1997). Aus den Vorläuferzellen entstehen über mehrere Entwicklungsstadien reife, differenzierte Oligodendrozyten (siehe Abb.1).

Frühe Oligodendrozytenvorläuferzellen wurden zuerst im ventralen embryonalen Rückenmark nachgewiesen (Pringle et al. 1997; Ono et al. 1995). Durch verschiedene Einflüsse, von denen nicht alle erforscht sind, proliferieren diese Zellen dann und migrieren durch das ZNS. Mitogene wie PDGF (Pringle et al. 1992), FGF – 2 (Copelman et al. 2000) und chemotaktische Botenstoffe wie Netrin – 1 (Ruffini et al. 2004) scheinen dabei eine wichtige Rolle einzunehmen. Viele Faktoren, unter anderem TGF –  $\beta$  (Louis et al.1992b) und IGF – 1 (Franklin et al. 2001) kontrollieren die Positionierung und leiten mit PDGF die Differenzierung ein. IGF – 1 scheint dabei die Bildung von Myelin zu vermitteln (McMorris et al. 1993). Nur differenzierte Oligodendrozyten sind in der Lage, Myelin zu bilden, wohingegen undifferenzierte Oligodendrozytenvorläuferzellen ein höheres Potential zur Migration besitzen als differenzierte. Die Oligodendrozytenvorläuferzellen nennt man auch OPC (oligodendrocyte progenitor cells). Einige OPC differenzieren während ihrer Entwicklung nicht aus und verbleiben als adulte OPC subventrikulär und können eine Ressource für die Remyelinisierung darstellen (Wolswijk et al.1989; Miller et al. 2002).

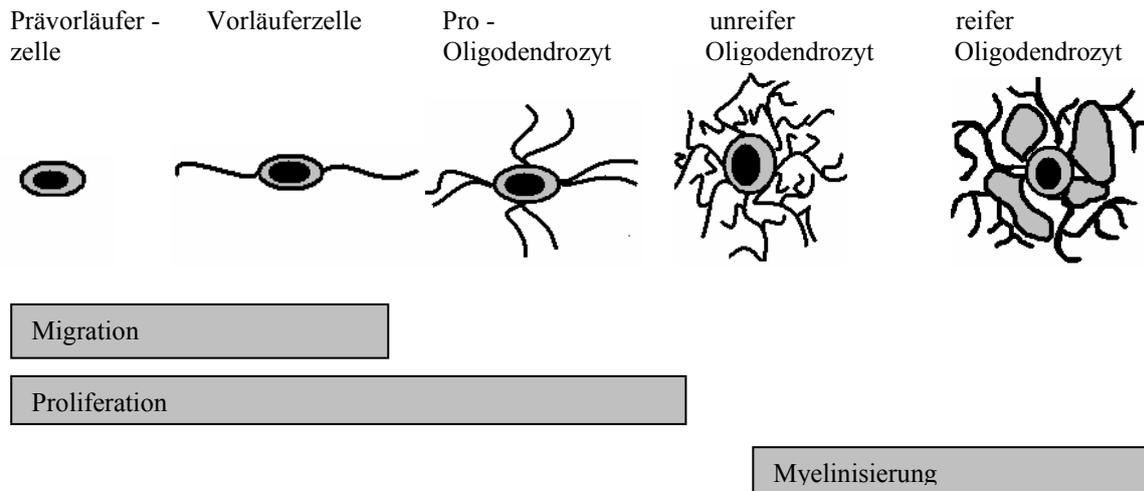


Abb. 1 Entwicklungsstadien von Oligodendrozyten

### 1.1.2 Struktur und Aufgaben

Oligodendrozyten sind am Aufbau von Nervenfasern im ZNS beteiligt. Nervenfasern bestehen aus einem Axon und einer Axonscheide. Diese Axonscheide wird von den Oligodendrozyten gebildet. Es wird auch von Myelin oder einer Markscheide gesprochen. Diese Markscheide besitzt noch so genannte Ranvier – Schnürringe entlang des Axons, die durch Interzellularräume zwischen benachbarten Oligodendrozyten zustande kommen. Diese Ranvier – Schnürringe bedingen eine saltatorische Erregungsleitung in den markhaltigen Nervenfasern.

Oligodendrozyten haben Fortsätze, welche sich zwiebelschalenartig um die Axone anordnen. Man unterteilt die Oligodendrozyten in vier Subtypen: Typ I hat einen polygonalen Zellkörper und besitzt viele lange, dünne Fortsätze, welche eine direkte Verbindung zu den Nervenfasern haben. Er ist im Frontalhirn, Kleinhirn und auch im Rückenmark lokalisiert und stellt den häufigsten Typ dar. Typ II besitzt weniger, dafür aber dickere Fortsätze als Typ I. Er kommt hauptsächlich in der weißen Substanz vor. Typ III hat nur drei bis vier Fortsätze und befindet sich im Kleinhirn, der Medulla oblongata und dem Rückenmark. Typ IV ist selten und wurde im Rückenmark beobachtet. Oligodendrozyten vom Typ IV haben eine große Ähnlichkeit mit Schwann`schen Zellen (zusammengefasst in Szuchet et al. 1997).

Oligodendrozyten gewährleisten durch ihre isolatorischen Eigenschaften den schnellen Transport von neuronalen Informationen, sowohl motorischen als auch sensorischen.

Bei einem Ausfall dieser Zellen kommt es zu einer Leitungsverzögerung. Des Weiteren geben Oligodendrozyten wahrscheinlich auch trophische Signale für Neurone (Wilkins et al. 2003).

## 1.2 Multiple Sklerose

### 1.2.1 Pathologie

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine schubförmig oder chronisch verlaufende Entmarkungskrankheit des ZNS unklarer Ätiologie. Der Manifestationshöhepunkt liegt zwischen dem 20 – 40. Lebensjahr mit einer Ratio der Erkrankung zwischen weiblichen und männlichen Geschlecht von 3:1. Die MS ist klinisch vor allem durch Paralysen, sensorische Ausfälle, Koordinationschwierigkeiten und visuelle Beeinträchtigung gekennzeichnet. Betroffene Zellen sind die myelinscheidenbildenden Oligodendrozyten, welche in einem Entzündungsprozeß zugrunde gehen. Trotz der noch unklaren Ätiologie existieren viele Modelle, die Ansätze für die Ursachen der MS bieten. Es existiert ein Unterschied in der Erkrankungsrate innerhalb der Weltbevölkerung. Eine mögliche Erklärung wäre ein sogenannter pathogener Umweltfaktor (z.B. ein Virus), der in bestimmten Breitengraden gehäuft vorkommt (Steinman et al. 2001). Auch erbliche Faktoren spielen eine Rolle (Oksenberg et al. 2001).

Neueste Erkenntnisse zeigen eine enge Verwandtschaft zwischen dem menschlichen Genom und dem Genom verschiedener Mikroben (Steinman et al. 2001). Im Zusammenhang mit der MS zeigen viele mikrobielle Proteinsequenzen Homologien zu Strukturen, die in der Myelinscheide enthalten sind. Diese sogenannte molekulare Mimikry kann nun zu einer Attacke gegen Myelinscheiden führen. Viele Viren (z.B. Influenza, Masern, Herpesvirus 6, Papillomaviren und Epstein-Barr Virus) besitzen auch imitierende Gene für Myelin. Vermutlich kommt es dadurch zu einer Aktivierung des Immunsystems gegen die Fremdorganismen und gleichzeitig zu einer Attacke gegen körpereigene Oligodendrozyten, die in bestimmten Genomsequenzen Parallelen zu den Fremdorganismen aufweisen (Steinman 2001). Daher wird die MS auch als eine Autoimmunkrankheit bezeichnet, bei der sich die Immunabwehr gegen körpereigene Zellen richtet. Ein kritischer Schritt im pathologischen Prozess der MS ist das Einwandern von mononukleären und lymphatischen Zellen in das ZNS.

Die Entzündung oder auch Enzephalitis wird hauptsächlich über T – Zellen, B – Zellen und Makrophagen vermittelt. Nach zytokinvermitteltem Überwinden der Blut – Hirn – Schranke produzieren aktivierte T – Zellen proinflammatorische Botenstoffe wie  $IFN - \gamma$ ,  $TNF - \alpha$  und Interleukin  $1 - \beta$ , welche eine Entzündungsreaktion induzieren, in deren Verlauf die

Myelinscheide der Oligodendrozyten angegriffen wird und die Zellen zugrunde gehen (zusammengefasst in Minagar et al. 2004; Steinman 2001). Die zerstörten Oligodendrozyten werden von Blutmakrophagen und Mikroglia „entsorgt“. Astrozyten nehmen nun den Platz der Oligodendrozyten ein und bilden die sogenannte Glianarbe, welche allerdings nicht die isolierenden Eigenschaften der Oligodendrozyten aufweist. In einigen Fällen jedoch erholt sich das entzündete Gewebe durch das Einwandern von sogenannten Oligodendrozytenvorläuferzellen (OPC), welche im Hirngewebe ruhen, die die zugrundegegangenen Oligodendrozyten funktionstüchtig ersetzen können (Blakemore und Keirstead 1998). Diesen Vorgang nennt man Remyelinisierung (Bunge et al. 1961). Die Remyelinisierung ist eine Reaktion auf einen pathologischen Prozess und unterscheidet sich somit von der physiologischen Myelinisierung. Neues Myelin ist dünner und weist kürzere Abstände zwischen den Ranvier'schen Schnürringen auf (Blakemore et al. 1974). Bei der Remyelinisierung muß eine Aktivierung der subventrikulären OPC stattfinden, welche daraufhin proliferieren, migrieren und differenzieren. Wie bei der physiologischen Myelinisierung scheinen auch hier Stoffe wie PDGF eine wichtige Rolle zu spielen. Die Produzenten sind neben Astrozyten auch Makrophagen und Mikroglia (Franklin et al. 2001, Frost et al. 2003).

Makrophagen besitzen eine duale Rolle bei der Multiplen Sklerose. Einerseits sind sie Mediatoren der Demyelinisierung (Diemel et al. 1998), andererseits tragen Makrophagen, welche die Myelintrümmer beseitigen, zur Remyelinisierung bei (Kotter et al. 2001), da ein fehlendes Abtragen dieser Trümmer eine funktionelle und vollständige Remyelinisierung beeinträchtigen würde. Außerdem produzieren Makrophagen proremyelinisierende Signalmoleküle wie NGF und BDNF (Kerschensteiner et al. 2003). Durch diese werden die Proliferation der OPC und ihre Migration zu demyelinisierten Läsionen gefördert. Doch nicht immer tritt eine funktionstüchtige Remyelinisierung auf. Ursachen können fehlerhafte Rekrutierung von OPC sein, fehlende Differenzierung oder schlichtweg das Fehlen von OPC, welche durch die Entzündung zugrunde gegangen sind, oder durch OPC – Antikörper vernichtet wurden (Franklin et al. 2002). Auch können wiederholte Episoden von Remyelinisierung die OPC – Ressourcen aufbrauchen, sodass mit fortschreitender Erkrankung die Remyelinisierungsrate, wenn sie denn eintritt, immer geringer ausfällt (Blakemore und Keirstead, 1998 ).

## 1.3 Chemokine und Chemokinrezeptoren

### 1.3.1 Bedeutung

Chemokine sind chemotaktische Proteine mit einem Molekulargewicht von 8 – 10 kDa, der Familie der Zytokine zugehörig, die eine umfassende Aufgabe in der Zellverständigung haben. Sie übernehmen regulatorische Tätigkeiten im Hinblick auf z.B. Wundheilung, Entzündung, Angiogenese wie auch Angiostase, Steuerung von Immunantworten, Migration von Zellen, Entwicklung von TH1/TH2- Lymphozyten, Entwicklung von lymphoiden Organen aber auch Metastasierung bei malignen Erkrankungen.

Dementsprechend existieren für die einzelnen Chemokine auch spezielle Rezeptoren, sogenannte Chemokinrezeptoren. Diese Chemokinrezeptoren kommen auf vielen Zellen des Körpers vor, besonders auf Immunzellen wie T – oder B – Lymphozyten, dendritischen Zellen, Makrophagen/ Mikroglia, Monozyten aber auch auf gewebeständigen Zellen wie Endothelzellen oder Astrozyten. Bestimmte Chemokine können auf mehrere Rezeptoren wirken und durch diese auch unterschiedliche Reaktionen hervorrufen, daher ist die Besiedlung mit den jeweiligen Rezeptoren von der Zellart und auch deren Lokalisation im Organismus abhängig, je nachdem, welche Aufgabe die Zelle hat, ob also z.B. eher immunmodulatorische Signale vermittelt werden sollen oder Zellmigration induziert werden soll.

Auch einige Infektionskrankheiten, insbesondere durch das HI – Virus verursachte Erkrankungen, können mit Chemokinrezeptoren in Verbindung gebracht werden (der Chemokinrezeptor CXCR4 auf aktivierten T – Lymphozyten dient dem Virus als Eintrittspforte in die Zelle).

Durch diese Erkenntnisse werden große Hoffnungen in die therapeutische Bedeutung der Chemokine und ihren Rezeptoren gesetzt (Zlotnik et al. 2000, Rossi et al. 2000).

### 1.3.2 Struktur und Einteilung

Chemokine präsentieren spezifische Cysteinemotive in ihrer Aminosäuresequenz. Die meisten Chemokine haben vier charakteristische Cysteinbausteine und abhängig von ihrem Aufbau in den ersten beiden Cysteinen unterscheidet man CXC oder alpha – , CC oder beta – , C oder gamma – , und CX3C oder delta – Chemokinklasse. Einzig die gamma – Klasse besitzt nur zwei Cysteine statt vier. CXC – und CX3C - Chemokine haben zwischen den ersten beiden Cysteinbausteinen Aminosäuren, bei der CXC- Familie ist es eine Aminosäure, bei der CX3C –

Familie sind es drei Aminosäuren. Die Cysteine der CC – Familie sind benachbart, während die C – Familie nur einen Cysteinbaustein am Anfang besitzt. Die Nomenklatur hängt an die jeweiligen Chemokin – Familien ein L und eine Nummer für die Liganden (Chemokine), welche auch spezielle Eigennamen haben (Tabellen 1 und 2). Chemokinrezeptoren sind G – Proteingekoppelte, Sieben – Transmembran – Domänen – Rezeptoren (GPCR), entsprechend der Rhodopsin – Typ – Familie. Basierend auf der bindenden Klasse der Chemokine werden die Chemokinrezeptoren in CXCR1 – 5 (bindet CXC – Chemokine), CCR1 – 10 (bindet CC – Chemokine), XCR1 (bindet C – Chemokine bzw. Lymphotactin) und CX3CR1 ( bindet CX3C – Chemokine bzw. Fraktalkin) (Zlotnik et al. 2000) unterteilt.

**Tabelle 1 CXC, CC, C und CX3C- Chemokine / Rezeptoren**

| Chemokinrezeptor | Menschlicher Ligand  |
|------------------|--|
| CXCR1            | IL – 8, GCP – 2  |
| CXCR2            | IL – 8, GCP – 2, Gro $\alpha$ , Gro $\beta$ , Gro $\gamma$ |
| CXCR3            | MIG, IP - 10, I – TAC                                      |
| CXCR4            | SDF – 1  |
| CXCR5            | BLC/ BCA – 1   |
| XCR1             | Lymphotactin   |
| CX3CR1           | Fraktalkin/ Neurotactin                                    |
| CCR1             | MIP - 1 $\alpha$ , MIP - 1 $\beta$ , RANTES, HCC           |
| CCR2             | MCP – 1, MCP – 2, MCP – 3, MCP – 4                         |
| CCR3             | Eotaxin – 1, Eotaxin – 2, MCP – 3                          |
| CCR4             | TARC, MDC, MIP - 1 $\alpha$ , RANTES                       |
| CCR5             | MIP - 1 $\alpha$ , MIP - 1 $\beta$ , RANTES                |
| CCR6             | MIP - 3 $\alpha$ / LARC                                    |
| CCR7             | MIP - 3 $\beta$ / ELC, 6kine                               |
| CCR8             | I – 309  |
| CCR9             | TECK   |
| CCR10            | CTACK  |

**Tabelle 2 Chemokine und die dazugehörigen Rezeptoren**

| Systematischer Name | Menschlicher Ligand           | Maus Ligand     | Chemokine Rezeptor(en) |
|---------------------|-------------------------------|-----------------|------------------------|
| CXCL1               | GRO $\alpha$ / MGSA- $\alpha$ | GRO/KC          | CXCR2 > CXCR1          |
| CXCL2               | GRO $\beta$ / MGSA- $\beta$   | GRO/KC          | CXCR2                  |
| CXCL3               | GRO $\gamma$ / MGSA- $\gamma$ | GRO/KC          | CXCR2                  |
| CXCL4               | PF4                           | PF4             | unbekannt              |
| CXCL5               | ENA – 78                      | LIX             | CXCR2                  |
| CXCL6               | GCP – 2                       | CK $\alpha$ – 3 | CXCR1, CXCR2           |
| CXCL7               | NAP – 2                       | unbekannt       | CXCR2                  |
| CXCL8               | IL – 8                        | unbekannt       | CXCR1, CXCR2           |
| CXCL9               | MIG                           | MIG             | CXCR3                  |

|              |                                    |                                    |                  |
|--------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------|
| CXCL10       | IP – 10                            | IP – 10                            | CXCR3            |
| CXCL11       | I – TAC                            | unbekannt                          | CXCR3            |
| CXCL12       | SDF - 1 $\alpha/\beta$             | SDF – 1                            | CXCR4            |
| CXCL13       | BLC/ BCA – 1                       | BLC/ BCA – 1                       | CXCR5            |
| CXCL14       | BRAK/ Bolekine                     | BRAK                               | unbekannt        |
| XCL1         | Lymphotactin/ SCM – 1 $\alpha$     | Lymphotactin                       | XCR1             |
| XCL2         | SCM - 1 $\beta$                    | unbekannt                          | XCR1             |
| CX3CL1       | Fraktalkin                         | Neurotaktin                        | CX3CR1           |
| CCL1         | I – 309                            | TCA – 3                            | CCR8             |
| CCL2         | MCP – 1                            | JE                                 | CCR2             |
| CCL3         | MIP – 1 $\alpha$ / LD78 $\alpha$   | MIP – 1 $\alpha$                   | CCR1, CCR5       |
| CCL4         | MIP – 1 $\beta$                    | MIP – 1 $\beta$                    | CCR5             |
| CCL5         | RANTES                             | RANTES                             | CCR1, CCR3, CCR5 |
| (CCL6)       | unbekannt                          | C10, MRP – 1                       | unbekannt        |
| CCL7         | MCP – 3                            | MARC                               | CCR1, CCR2, CCR3 |
| CCL8         | MCP – 2                            | MCP – 2                            | CCR3             |
| (CCL9/CCL10) | unbekannt                          | MRP – 2, MIP – 1 $\gamma$          | unbekannt        |
| CCL11        | Eotaxin                            | Eotaxin                            | CCR3             |
| (CCL12)      | unbekannt                          | MCP – 5                            | CCR2             |
| CCL13        | MCP – 4                            | unbekannt                          | CCR2, CCR3       |
| CCL14        | HCC – 1                            | unbekannt                          | CCR1             |
| CCL15        | HCC – 2/Lkn – 1/ MIP – 1 $\delta$  | unbekannt                          | CCR1, CCR3       |
| CCL16        | HCC – 4 / LEC                      | LCC – 1                            | CCR1             |
| CCL17        | TARC                               | TARC                               | CCR4             |
| CCL18        | DC – CK1/ PARC/ AMAC – 1           | unbekannt                          | unbekannt        |
| CCL19        | MIP – 3 $\beta$ /ELC/ exodus – 3   | MIP – 3 $\beta$ /ELC/ exodus – 3   | CCR7             |
| CCL20        | MIP – 3 $\alpha$ /LARC/ exodus – 1 | MIP – 3 $\alpha$ /LARC/ exodus – 1 | CCR6             |
| CCL21        | 6Ckine/SLC/ exodus – 2             | 6Ckine/SLC/ exodus – 2/TCA         | CCR7             |
| CCL22        | MDC                                | ABCD – 1                           | CCR4             |
| CCL23        | MPIF – 1                           | unbekannt                          | CCR1             |
| CCL24        | MPIF – 2/Eotaxin – 2               | unbekannt                          | CCR3             |
| CCL25        | TECK                               | TECK                               | CCR9             |
| CCL26        | Eotaxin – 3                        | unbekannt                          | CCR3             |
| CCL27        | CTACK                              | CTACK/ ILC ESkine                  | CCR10            |
| CCL28        | MEC                                | MEC                                | unbekannt        |

(Zlotnik und Yoshie 2000; Murphy 2002)

### 1.3.3 Chemokine und Chemokinrezeptoren an Zellen des ZNS

Chemokine und ihre Rezeptoren sind vielfach auch im ZNS vorhanden (Tabelle 3). Sie agieren als so genannte Neuromodulatoren und vermitteln daher physiologische wie auch pathologische Vorgänge. So regulieren Chemokine die Entwicklung des ZNS in Hinsicht auf die Reifung von Neuronen oder auch Proliferation von Oligodendrozytenvorläuferzellen. Im adulten ZNS sind Chemokine an der interzellulären Kommunikation, neuronalen Funktionen und der Unterstützung der Gewebestruktur beteiligt.

Doch die Mehrzahl der im ZNS nachweisbaren Chemokine und Expression dazugehöriger Rezeptoren stehen in Zusammenhang mit pathologischen Prozessen. So vermitteln Chemokine bei Inflammation Leukozytenmigration und – aktivierung, sowie Gliazellmigration und – aktivierung. Auch bei der HIV – Infektion oder der Erzeugung von Fieber spielen Chemokine bzw. Chemokinrezeptoren eine tragende Rolle (Asensio und Campbell, 1999). Über die physiologische Bedeutung von Chemokinen ist weniger bekannt als über ihre Rolle in pathologischen Prozessen, obwohl auch die Expression von Chemokinen im gesunden ZNS vielfach beschrieben wurde.

Ein essentieller wichtiger Rezeptor für die Entwicklung und Reifung des Gehirns, speziell des Kleinhirns, ist der Chemokinrezeptor CXCR4 mit seinem Liganden SDF – 1 (Zou et al. 1998). Gleichzeitig ist dieser Rezeptor aber auch ein Hauptanker für Stränge des HI – Virus, welches eine Immunschwäche und die typische HIV – Demenz hervorruft.

Der Rezeptor CX3CR1 ist weit verbreitet im ZNS und wird auf Mikroglia, Astrozyten und Neuronen exprimiert. Sein einziger Ligand ist Fraktalkin. Seine weite Verbreitung lässt auf intensiven Verkehr zwischen Neuronen und Gliazellen schließen, zumal Fraktalkin auch von Neuronen produziert wird (Meucci et al. 2000). Über Fraktalkin wird Zelladhäsion vermittelt (Murphy, 1997), möglicherweise auch im Hinblick auf Nervenzellreparatur und strukturelle Integrität im ZNS. Des Weiteren wird Fraktalkin auch eine neuroprotektive Komponente zugesprochen hinsichtlich HIV – induzierter Demenz (Meucci et al. 2000).

CXCL1/ GRO –  $\alpha$  konnte in Zusammenhang mit OPC – Proliferation gebracht werden (Robinson et al. 1998; Wu et al. 2001). CCL5/RANTES beeinflusst die fetale Astrozytenproliferation (Bakhiet et al. 2001) und CXCL8/IL – 8 konnte eine Rolle bei dem Aufbau synaptischer Aktivität nachgewiesen werden (Giovannelli et al. 1998).

**Tabelle 3 Chemokinrezeptoren des ZNS**

| Rezeptor | Mensch  | Ratte                          |
|----------|---|--------------------------------|
| CCR1     | Astrozyten, Endothelzellen,<br>Neurone            | Astrozyten, Mikroglia, Neurone |
| CCR2     | Astrozyten, Mikroglia, Neurone                    | Mikroglia                      |
| CCR3     | Astrozyten, Mikroglia, Endothelzellen,<br>Neurone |                                |
| CCR4     | Endothelzellen                                    | Neurone                        |
| CCR5     | Astrozyten, Mikroglia, Neurone,<br>Endothelzellen | Mikroglia, Neurone             |

|        |   |   |
|--------|---|---|
| CCR9   |   | Neurone                                     |
| CCR10  |   | Neurone                                     |
| CXCR1  |   | Neurone, Oligodendrozyten (CG – 4 – Zellen) |
| CXCR2  | Astrozyten, Mikroglia, Neurone,                   | Oligodendrozyten, Neurone                   |
| CXCR3  | Astrozyten, Neurone                               |   |
| CXCR4  | Astrozyten, Mikroglia, Neurone,<br>Endothelzellen | Astrozyten, Mikroglia, Neurone              |
| CXCR6  | Astrozyten  |   |
| CX3CR1 | Astrozyten, Mikroglia, Neurone                    | Astrozyten, Mikroglia, Neurone, Myelon      |

Zusammengefasst in: Bajetto et al. 2002

### 1.3.4 Expression von Chemokinen und ihren Rezeptoren bei der MS

Der inflammatorische Prozess der Multiplen Sklerose steht in Zusammenhang mit chemotaktischen Signalen wie denen durch Chemokine vermittelten.

Im gesunden Hirngewebe befinden sich normalerweise keine Lymphozyten oder Blutmakrophagen. Doch über eine unter anderem chemokinvermittelte Durchlässigkeit der Blut – Hirn – Schranke können diese Zellen in das ZNS – Parenchym eindringen (Eugenin und Berman 2003; Alt et al. 2002). Zytokine wie IFN –  $\gamma$ , Prostaglandine, LPS oder TNF –  $\alpha$  nehmen Einfluss auf die Sekretion von Chemokinen und die Dichte der Chemokinrezeptoren insbesondere auf Astrozyten und Mikroglia (Peterson et al. 1997; Miyamoto et al. 1999; Barnes et al. 1996; Hu et al. 1999). Viele Ergebnisse beruhen auf Untersuchungen im Tiermodell EAE.

Der Hauptfokus bei der MS liegt auf den Chemokinen CCL2/MCP – 1, CCL8/MCP – 2, CCL7/MCP – 3 (McManus, 1998), CCL3/MIP – 1 $\alpha$ , CCL4/MIP – 1 $\beta$ , CCL5/RANTES (Simpson et al. 1998) und CXCL10/IP – 10 und CXCL9/MIG (Simpson et al. 2000). CXCL10 und CXCL9 sind maßgeblich an einer Retention und Steuerung von T – Zellen und Makrophagen beteiligt (Balashov et al. 1999; Kivisäkk et al. 2002). Mikroglia und Astrozyten exprimieren den entsprechenden Rezeptor CXCR3 in entzündeten Gebieten (Biber et al. 2002; de Groot et al. 2001). CCL5 ist an akuten MS – Attacken beteiligt und der entsprechende Rezeptor CCR5 wurde auf Makrophagen, Lymphozyten und Mikroglia im Bereich des MS – Läsionen gefunden (Balashov et al. 1999; Simpson et al. 2000, Trebst et al. 2001). Auch Chemokine wie CCL19/ELC, CCL21/SLC und CXCL8/IL – 8 sind an der Inflammation beteiligt, spielen aber eine eher untergeordnete Rolle (Alt et al. 2002; Columba – Cabezas et al. 2003; Alter et al. 2003).

Chemokine tragen auch zur Instabilität der Blut – Hirn – Schranke bei: So erhöht CCL2 die Permeabilität der Blut – Hirn – Schranke, so dass T – Zellen, Makrophagen und Monozyten, gleichermaßen durch CCL2 angelockt, ins Hirngewebe eindringen (Vaddi et al. 1997). CCL2, CCL4 und CX3CL1/Fraktalkin können die Sekretion von MMP9 (Matrix – Metallo – protein 9) in Mikroglia fördern, welches eine ebenfalls wichtige Rolle beim Zusammenbruch der Blut – Hirn – Schranke spielt (de Groot et al. 2001; Steinman et al. 2001). CCL2 ist auch toxisch für die Myelinscheide der Oligodendrozyten und induziert zusätzlich die Produktion von ebenfalls myelintoxischen Zytokinen wie TNF –  $\alpha$  und IL – 1 durch T – Zellen (Merrill und Murphy 1997; Merrill und Scolding 1999). Ein erhöhtes Vorkommen von CX3CL1 wurde bei der MS beobachtet. Diesem Chemokin wird aber eher eine neuroprotektive Rolle zugeordnet (Mizuno et al. 2003). Die bisherigen Ergebnisse hinsichtlich der Chemokine und Rezeptoren betreffen jedoch nur Aussagen zur Inflammation und den daran beteiligten Entzündungszellen. Bislang gibt es jedoch noch keine Untersuchung, auf welche Art und Weise Chemokine während der Inflammation auf Oligodendrozyten Einfluss nehmen können.

#### **1.4 Aufgabenstellung und Ziel der vorliegenden Arbeit**

Bei der multiplen Sklerose werden über umfangreiche Chemokin – und Zytokinbotschaften die Migration von Entzündungszellen und die Zerstörung von Myelin vermittelt. Gleichzeitig jedoch kommt es nach Zerstörung der Myelinscheide zu einer Remyelinisierung, welche unterschiedlich ausgeprägt ist und von Individuum zu Individuum variiert. Diese Remyelinisierung kann nur stattfinden, wenn OPC, durch verschiedenen Faktoren beeinflusst, zur Stelle der Demyelinisierung wandern und sich von Vorläuferzellen in reife Oligodendrozyten umwandeln, um funktionstüchtiges, isolierendes Myelin um Axone zu bilden. Es werden verschiedene Stoffe diskutiert, die darauf Einfluss haben, darunter Wachstumsfaktoren, Zytokine und Chemokine.

Ziel der Arbeit war es, das Vorhandensein von Chemokinrezeptoren auf Oligodendrozytenvorläuferzellen am Modell der Zellreihe CG – 4 zu untersuchen. Als Methoden wurden auf molekularer Ebene mittels RT – PCR die m – RNA auf das Vorhandensein bekannter Rezeptorstrukturen untersucht. Des Weiteren wurden die Zellen immunhistochemisch gefärbt, um auf Proteinebene ebenfalls das Vorhandensein der Rezeptoren zu dokumentieren. Über nachgewiesene Rezeptoren wäre es durch das gezielte Arbeiten mit den dazugehörigen Chemokinen möglich, das Verhalten der Zellen zu manipulieren, besonders hinsichtlich Proliferation, Migration und Differenzierung.