

6 ZUSAMMENFASSUNG

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt besteht ein komplexes Bild von den pathophysiologischen Vorgängen, die bei der Entstehung von Läsionen im Krankheitsverlauf der Multiplen Sklerose eine Rolle spielen. Obwohl alle Zusammenhänge, wie z.B. die genaue Ursache, noch nicht geklärt sind, zeigt die aktuelle Forschung ein immer komplexeres Zusammenspiel von Zytokinen, Wachstumsfaktoren, Entzündungszellen und Gliazellen während der Inflammation. Dabei scheint auch den als jüngsten Vertretern der Zytokine entdeckten Chemokinen eine bedeutsame Rolle zuzukommen. Chemokine vermitteln das Eindringen der Entzündungszellen in das ZNS und die Migration von Lymphozyten, Makrophagen und Mikroglia zum Entzündungsort. Chemokine sind jedoch nicht nur Vermittler von Entzündung, sondern sie beeinflussen offenbar auch die Reifung und Migration von Oligodendrozytenvorläuferzellen, welche im Rahmen der Embryogenese das ZNS durchwandern und dann zu ortsständigen Oligodendrozyten reifen und essentielle Funktionen bei der Informationsübertragung durch das Axon gewährleisten.

Das Augenmerk der Forschung war bisher vermehrt auf das Vorhandensein von Chemokinrezeptoren auf Entzündungszellen gerichtet, um dort in den Prozess der Inflammation eingreifen zu können. Oligodendrozytenvorläuferzellen befinden sich jedoch auch im adulten ZNS und können eine demyelinisierte Läsion remyelinisieren. Es stellt sich also die Frage, ob über die Chemokine die Migration von adulten Oligodendrozytenvorläuferzellen zur MS – Läsion beeinflusst und dadurch gezielt eine Remyelinisierung erreicht werden kann. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung von Oligodendrozytenvorläuferzellen in Form einer Zelllinie auf die Existenz von Chemokinrezeptoren.

Die verwendete Zelllinie wurde von Louis 1992 beschrieben und als CG – 4 – Zelllinie bezeichnet. Die Zellen wurden in Kulturflaschen angezüchtet und in zwei verschiedenen Medien gehalten, das eine förderte vermehrt die Proliferation (Inkubationsdauer 2 – 3 Tage), das andere die Differenzierung (Inkubationsdauer 14 Tage) der Zellen. Dadurch sollten Unterschiede in der Ausprägung von Chemokinrezeptoren abhängig vom Reifegrad untersucht werden. Parallel wurden die Zellen zur immunfluoreszenzmikroskopischen Färbung hinsichtlich des Reifegrads und Vorhandensein von Chemokinrezeptoren kultiviert.

Nach dem Ernten der Zellen aus den Zellkulturflaschen wurde die mRNA aus diesen isoliert und mittels PCR mit spezifischen Chemokinrezeptorprimern auf die genetische Information für diese Rezeptoren untersucht. Die jeweils positiven Ergebnisse wurden dann aufgereinigt und sequenziert

und konnten mit bekannten Chemokinrezeptoren der Internetdatenbank www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST verglichen werden.

Die Untersuchung der CG – 4 – Zellen ergab positive Ergebnisse für die Rezeptoren CCR1, CCR3, CCR7, CXCR1, CXCR2, CXCR4 und CX3CR1 für die Zellen, die nur kurz kultiviert wurden und somit ein unreiferes Stadium der CG – 4 – Zellen charakterisierten. Bei den CG – 4 – Zellen, welche 14 Tage kultiviert wurden und weiter differenzieren konnten, waren die Ergebnisse positiv für die Rezeptoren CCR1, CCR3, CCR7, CXCR2, CXCR4 und CX3CR1. Somit exprimierten die reiferen CG – 4 – Zellen nicht den Rezeptor CXCR1, die unreiferen CG – 4 – Zellen aber wohl. Dies war der einzig festzustellende Unterschied gewesen.

Gleichzeitig wurden Zellen auf Chemokinrezeptoren gefärbt, um auch eine tatsächliche Ausprägung der Rezeptoren an der Oberfläche der CG – 4 – Zellen zu bestätigen und dabei mit den spezifischen Antikörpern A₂B₅, GalC, O4 und MBP den Reifegrad zu bestimmen. Die Färbung erfolgte mit fluoreszierenden Sekundärantikörpern.

In der immunfluoreszenzmikroskopischen Färbung waren sowohl unreife als auch reifere CG – 4 – Zellen positiv für die Rezeptoren CCR1, CCR2, CXCR2 und CX3CR1. Weitere Färbungen konnten aufgrund der fehlenden Verfügbarkeit von entsprechenden Antikörpern nicht durchgeführt werden. Somit konnte die Präsenz von einigen Chemokinrezeptoren auf Oligodendrozytenvorläuferzellen bestätigt werden. Welche Rolle diese Erkenntnisse hinsichtlich der Remyelinisierung besitzen, bleibt noch abzuklären. Doch allein die Existenz von diesen Rezeptoren auf Oligodendrozytenvorläuferzellen macht es wahrscheinlich, dass Chemokine Einfluss auf diese Zellen haben, sowohl im physiologischen, wie auch im pathologischen Zusammenhang.