

ran, dass Kontakte zwischen Nervenzellen durch biochemische Prozesse je nach Bedarf geknüpft und wieder abgebaut werden können.

Nicht zu vergessende Moleküle...

Flexibles »Networking« von Nervenzellen formt das Gedächtnis

von Clara
Essmann und
Amparo Acker-
Palmer

Ein funktionierendes Gedächtnis beruht darauf, dass die Kontakte zwischen den Milliarden Nervenzellen in unserem Gehirn sich ständig verändern und anpassen. Häufig verwendete Signalwege werden verstärkt und ausgebaut, wie eine Landstraße zu einer Schnellstraße. Weniger häufig benutzte Signalwege können dagegen abgebaut werden. Die Signalübertragung verlangsamt sich wie der Verkehr auf einer lange nicht mehr instand gehaltenen Straße. Will man diese Prozesse auf molekularer Ebene verstehen, muss man die Synapsen näher betrachten. Das sind spezialisierte Kontaktstellen, die es den Nervenzellen ermöglichen, hochkomplexe Netzwerke, sogenannte Schaltkreise, zu knüpfen. Die Flexibilität dieser Schaltkreise ermöglicht es uns, Informationen zu verarbeiten und entsprechend zu reagieren. Inzwischen kennt man eine Fülle von Boten-Molekülen, Rezeptoren und Liganden, die diese Prozesse auf molekularer Ebene steuern.

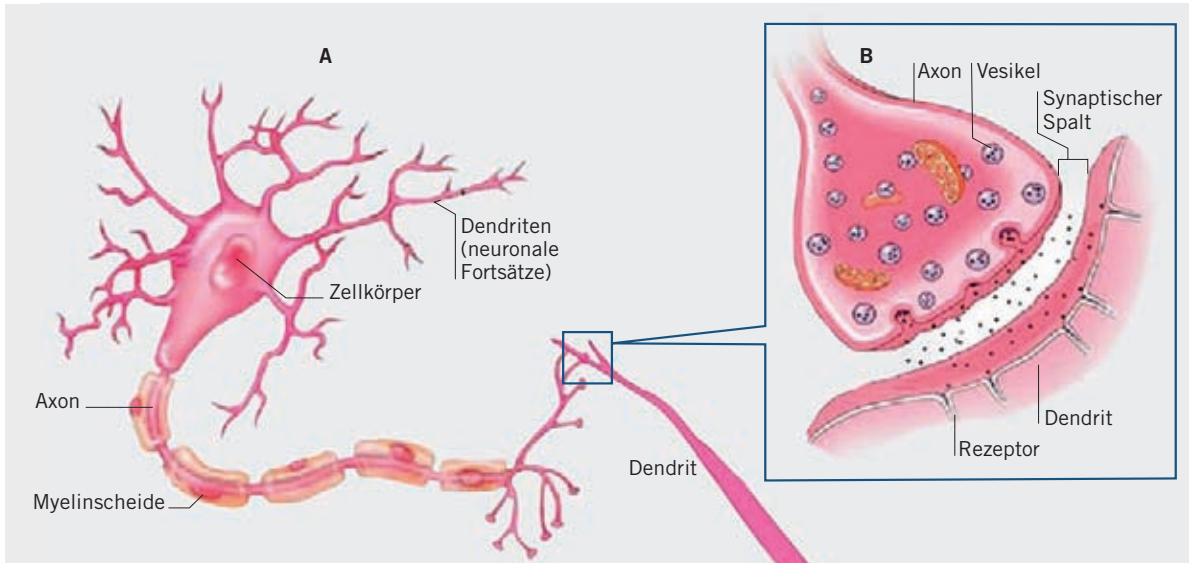
Eine Nervenzelle durchläuft eine Reihe von Entwicklungsstadien: Zunächst wandert sie von ihrem »Geburtsort«, zum Beispiel im Hippocampus, zu ihrem Zielort, bildet dann neuronale Fortsätze aus und differenziert sich. Das lang gezogene Axon, das Informationen anderen Nervenzellen weitergibt, sucht sich einen Weg im neuronalen Netzwerk. Die Zelle bildet kurze dendritische Dornen (»spines«), über die sie Informationen empfängt. Zuletzt entstehen die synaptischen Verknüpfungen mit den benachbarten Zellen. Jeder dieser Prozesse setzt eine Kommunikation zwischen Nervenzellen mit ihrem Umfeld, aber auch untereinander voraus. Oberflächenrezeptoren erkennen Signale von außen und leiten diese ins Innere der Zelle weiter. Die Signalleitung im Zellinneren ist jedoch kein linearer Prozess, vielmehr sind daran unzählige Moleküle beteiligt, die diese Prozesse durch spezifische Interaktionen lenken.

Wie Synapsen entstehen

Zwischen den Milliarden von Nervenzellen im Gehirn bestehen schätzungsweise 100 bis 500 Billionen Synapsen. Die Bildung dieser Kontaktstellen, meist zwi-

schen Axon und Dendrit zweier Neuronen, wird Synaptogenese genannt.^{1/1} Synapsen entstehen am Kopf von dendritischen Dornen, wenn der Kontakt zwischen Dorn und Axon stabilisiert wird. Während der Gehirnentwicklung bilden unreife Dendriten zunächst kleine, dünne, sehr bewegliche Fortsätze (Filopodia) aus, die das neuronale Umfeld nach aktiven präsynaptischen Partnern absuchen, um mit diesen stabile synaptische Kontakte zu bilden. Ist der Kontaktpartner gefunden, werden aus den beweglichen Filopodia stabile reife Dornen, die charakteristischerweise wie Pilze aussehen: Mit ihrem dicken Kopf, langem Stiel und breitem Fuß sitzen sie dem Dendrit auf. Der anfängliche Kontakt ist meist nur vorübergehend; viele Synapsen werden wieder aufgelöst und versetzt, bis ein vollständig funktionierendes neuronales Netzwerk entstanden ist.

An der Synaptogenese sind zahlreiche Moleküle beteiligt, die nicht nur Zeitpunkt und Ort der Synapsenbildung beeinflussen, sondern auch, wie spezifisch und stabil der Kontakt ist.^{2/2} Diese Moleküle können löslich sein und von anderen, oft entfernt liegenden Zellen ausgeschüttet werden (zum Beispiel Wnt, FGF und Neuro-



2 Struktur der Nervenzelle/Synapse. Nervenzellen empfangen Signale von anderen Nervenzellen über ein fein verzweigtes Netz von Dendriten. Über das lang gezogene Axon werden die Signale weitergegeben. Eine wichtige Rolle spielen dabei die Botenmoleküle, Rezeptoren und Liganden an den Kontaktstellen, den Synapsen, die diesen Prozess auf molekularer Ebene steuern.

trophine). Lösliche Moleküle dienen unter anderem als »Lockstoffe« und leiten Axone an ihr Ziel. Andere Moleküle wie die CAMs (cell adhesion molecules) sind in der Zellmembran verankert und wirken bei Zell-Zell-Kontakten. Unter diesen befinden sich zum Beispiel Cadherine, Protocadherine, SynCAM, Neuroligin, Neurexin, aber auch die Eph-Rezeptoren und Ephrin-Liganden, auf denen der Fokus unserer Arbeitsgruppe liegt.

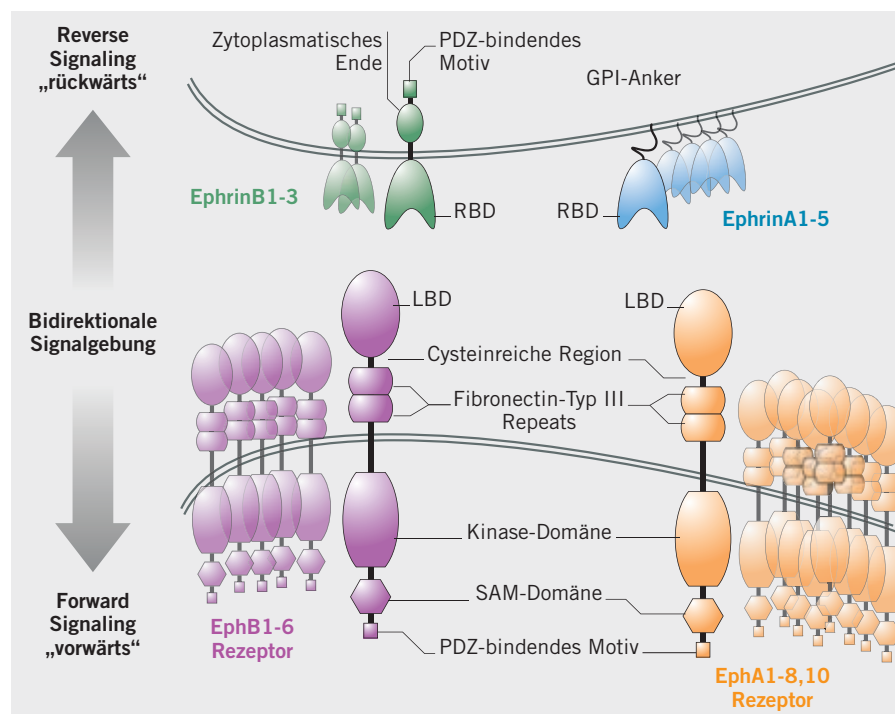
Wie Nervenzellen zueinander finden

Bei Säugetieren besteht die Eph-Familie der Rezeptor-Tyrosinkinasen aus neun EphA- und fünf EphB-Rezeptoren (EphA1-8 und EphA10 beziehungsweise EphB1-4 und EphB6). Wie der Schlüssel in ein Schloss, so passen bestimmte Liganden benachbarter Zellen genau in diese Rezeptoren. A-Typ-Rezeptoren binden üblicherweise an EphrinA-Liganden (EphrinA1-5), die durch einen Glycosylphosphatidylinositol-Arm in der Zellmembran verankert sind. B-Typ-Rezeptoren binden hauptsächlich EphrinB-Liganden, welche die Zellmembran durchziehen und eine kurze zytoplasmatische Domäne besitzen. 3 Eine Ausnahme bietet EphA4, das sowohl an A-Typ als auch an B-Typ Liganden bindet.^{13/}

Eine Besonderheit dieser Rezeptor-Tyrosinkinase-Familie besteht darin, dass sowohl die Rezeptoren- als auch die Membran-gebundenen Liganden Signale leiten können. Die Ephrin-Liganden lösen nicht nur in der Rezeptor-tragenden Zelle Signalgebung aus (Signalgebung vorwärts oder »forward signaling«), sondern geben selbst ein Signal in ihre Zelle weiter (Signalgebung rückwärts oder »reverse signaling«). Die Liganden weisen nach Aktivierung durch den Rezeptor neben Tyrosin- auch Serin-Phosphorylierung auf, die von uns kürzlich erstmals beschrieben wurden^{110/}. So-

wohl die vorwärts als auch rückwärts gerichtete Signalgebung kann bei den beiden interagierenden Zellen zur gegenseitigen Abstoßung führen. Dies spielt vor allem bei der Wegfindung der Axone eine Rolle, aber auch bei der räumlichen Eingrenzung von Zellpopulationen. Die Abstoßung des jeweiligen Interaktionspartners geschieht, indem entweder durch eine Einstülpung der Membran der ganze an den Liganden gebundene Rezeptor in die Ligandenzelle aufgenommen wird oder der ganze Ligand in die Rezeptorzelle (Transendozytose). 4 Somit ist ein Andocken nicht mehr möglich. Dieses Phänomen konnten wir an Wachstumskegeln von Nervenzellen in Kultur beobachten.^{14/} Diese flachen, fächerförmigen Strukturen an der Spitze eines wachsenden Axons tasten die Umgebung ab und steuern so, in welche Richtung es wächst. Gelangt der Wachstumskegel in fremdes Gebiet, erfolgt eine Eph/Ephrin-induzierte Abstoßung.

Nicht nur bei der Wegfindung von Axonen spielen Ephrine und Eph-Rezeptoren eine Rolle, sondern auch



3 Eph-Rezeptoren mit bidirektionaler Signalgebung. Eph-Rezeptoren und Ephrine werden in zwei Gruppen eingeteilt: A und B. EphrinA-Liganden sind direkt in der Membran verankert und binden an die EphA-Rezeptoren der benachbarten Zellen. EphrinB-Liganden ragen dagegen über eine kurze zytoplasmatische Domäne auch ins Innere der Zelle. Das außerhalb der Zelle liegende Ende bindet an EphB-Rezeptoren. Eine Bindung zwischen Ligand und Rezeptor bewirkt eine Signalübertragung in zwei Richtungen: zum einen in die Zelle, die den Rezeptor trägt (vorwärts gerichtet), und zum anderen in die Zelle, die den Liganden trägt (rückwärts gerichtet).

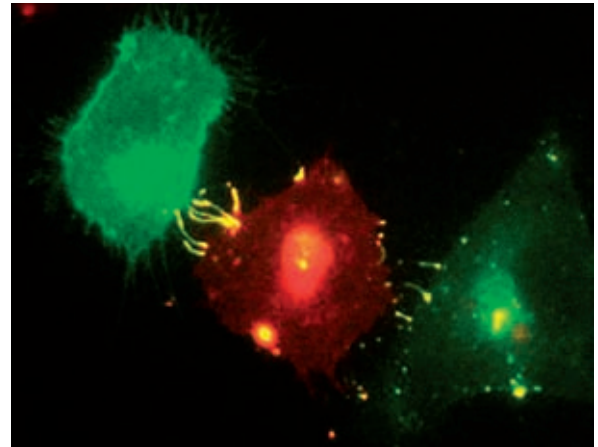
4 Endozytose von Eph-Rezeptoren und EphB-Liganden. In dieser fluoreszenz-mikroskopischen Aufnahme sind Endothelzellen dargestellt. Dabei leuchten die EphrinB1-Liganden rot und die EphB2-Rezeptoren grün. An Stellen des Zell-Zell-Kontaktes, wo Liganden auf Rezeptoren treffen, bilden sich aus rot und grün gefärbten Molekülen gelb leuchtende Molekülcluster. In beiden Zellen kommt es zu einer Einstülpung der Membran, wobei der Ligand-Rezeptor-Komplex in die Zelle aufgenommen wird (Endozytose).

bei der Bildung und Stabilisierung von dendritischen Dornen. Fehlen drei der häufigsten Eph-Rezeptoren im Hippocampus einer Maus, führt das zu Defekten bei der Dornenbildung. Aber auch Ephrin-Liganden sind an diesen Prozessen beteiligt. Dies konnten wir kürzlich in einer Studie zeigen, die Ephrin-spezifisch die Dornenentwicklung bei Nervenzellen in Kultur untersuchte. 5 Wie Ephrin-Liganden letztendlich eine Dornenbildung verursachen, hängt von dem Signalweg ab, den sie anschalten. Die Formation von dendritischen Dornen erfordert eine Umstrukturierung des Zytoskeletts, die bekannterweise von GTPasen kontrolliert wird. Durch Rezeptor-Kontakt werden die Ephrin-Liganden auf den dünnen Filopodien aktiviert. Dadurch wird ein Enzymkomplex rekrutiert, der für die lokale Aktivierung von GTPasen (Rac) sorgt. Diese rufen Veränderungen des Zytoskeletts hervor, die wiederum zur Bildung eines Dorns führen. 6/ [Siehe »Reverser Signalweg von EphrinB«, Seite 49]

Die Neurobiologie des Lernens

Und was passiert, wenn sich ein Dorn-Axon-Kontakt stabilisiert hat? Wie werden Informationen und Erinnerungen im Gehirn gespeichert? Dies geschieht durch bewusste oder unbewusste Lernprozesse. Dabei ist die Fähigkeit zur Gedächtnisbildung Ausdruck der Plastizität von neuronalen Systemen. Entscheidend ist hierbei, dass die Kontakte zwischen den Nervenzellen nicht statisch sind, sondern immer wieder neu gebildet, aber auch eliminiert werden können. Auch die Effizienz der Signalübertragung am synaptischen Kontakt ist veränderbar. Wird beispielsweise ein Kontakt innerhalb einer bestimmten Zeit häufiger stimuliert, reagiert er stärker. Ebenso hat das Ausschütten von Molekülen, die das Überleben von Neuronen sichern oder die die synaptische Leitfähigkeit modulieren, einen Einfluss auf den Kontakt. Dabei kommt es zu lang anhaltenden, biochemischen und auch morphologischen Veränderungen in der Synapse, die letztlich zu einer verbesserten oder verschlechterten Übertragungseffizienz führen (Potenzierung oder Depression).

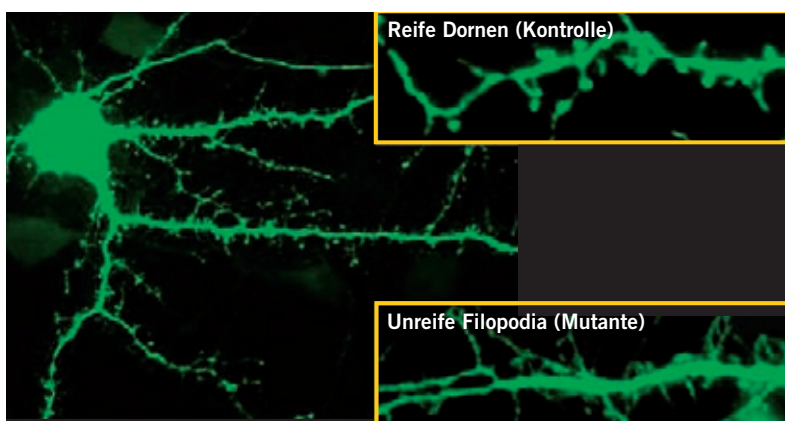
Donald O. Hebb postulierte als Erster, dass Synapsen durch ihre eigene Aktivität ihre Übertragungsstärke



ke ändern können.^{6/} Darauf basiert die sogenannte Hebb'sche Lernregel, eine bis heute gültige Hypothese, die besagt, dass eine Synapse durch gleichzeitige Aktivität im prä- und postsynaptischen Teil auf Dauer stärker wird. Die bestuntersuchte Form dauerhafter Veränderungen an Synapsen ist die Langzeit-Potenzierung (long term potentiation, LTP) oder die Langzeit-Depression (long term depression, LTD), bei der durch gezielte Stimulation des präsynaptischen Neurons ein dauerhaft erhöhtes beziehungsweise erniedrigtes Signal am postsynaptischen Neuron gemessen werden kann.^{7/} Dieses Phänomen, das als Basis für Gedächtnisbildung und Lernen betrachtet wird, ist an Synapsen in allen Bereichen des Gehirns beobachtet worden, die an der Gedächtnisbildung beteiligt sind: Hippocampus, Mandelkern, Kleinhirn- und Großhirnrinde. Von Bedeutung sind daher die molekularen Prozesse, die sich dabei auf beiden Seiten der Synapse abspielen. Da Eph-Rezeptoren und Ephrin-Liganden auf hippocampalen Synapsen exprimiert werden und bereits an der Dornenmorphogenese und der Synapsenbildung beteiligt sind, ist es nicht erstaunlich, dass sie auch bei der Modulation der synaptischen Übertragungsstärke eine Rolle spielen.

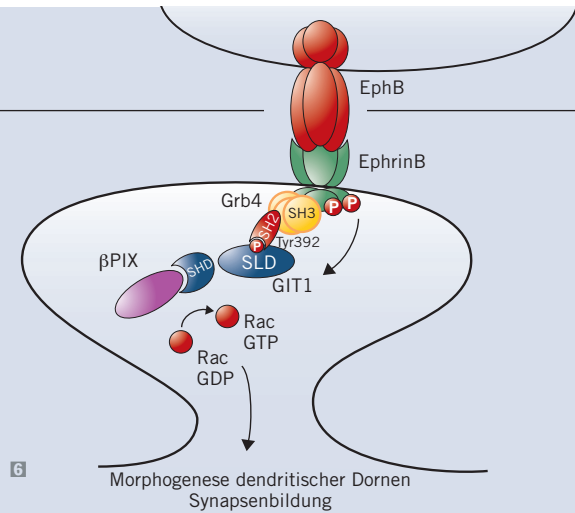
Betrachtet man das Expressionsmuster der Ephrine und Eph-Rezeptoren im Hippocampus der Maus, wird deutlich, dass diese in den verschiedenen Regionen unterschiedlich auftreten. 8/ In den Moosfasern, die Nervenverbindung von Zellen des *Gyrus dentatus* und der CA3-Region, findet man EphrinB3 in der präsynaptischen Seite des Kontaktes, während EphB2-Rezeptoren sowohl prä- als auch postsynaptisch vorhanden sind. In dem synaptischen Kontakt zwischen Neuronen der CA1- und CA3-Region, der sogenannten Schaffer-Kollateral-Verbindung, kommen die EphrinB-Liganden postsynaptisch vor. In der Schaffer-Kollateral-Verbindung konnte experimentell gezeigt werden, dass bei bidirektionaler Signalgebung von Ephrinen und Eph-Rezeptoren lang anhaltende Potenzialänderungen der Synapse allein durch die Liganden beeinflusst werden. Untersuchungen an Knock-out-Mäusen zeigten, dass EphrinB2-Liganden für die Bildung von LTP und LTD im Hippocampus unerlässlich sind.^{8/}

9 Dornen- und Synapsen-Bildung von Neuronen in Kultur. Neuron aus dem Hippocampus von 16 Tage alten Mäuse-Embryos (links). In der Vergrößerung der Dendritenabschnitte sieht man die reifen dendritischen Dornen einer normal entwickelten Nervenzelle (oben) und die unreifen Filopodia eines Neurons, dessen Entwicklung durch eine Mutation im EphrinB-Signalweg gestört ist (unten).



Reverser Signalweg von EphrinB bei der Bildung dendritischer Dornen

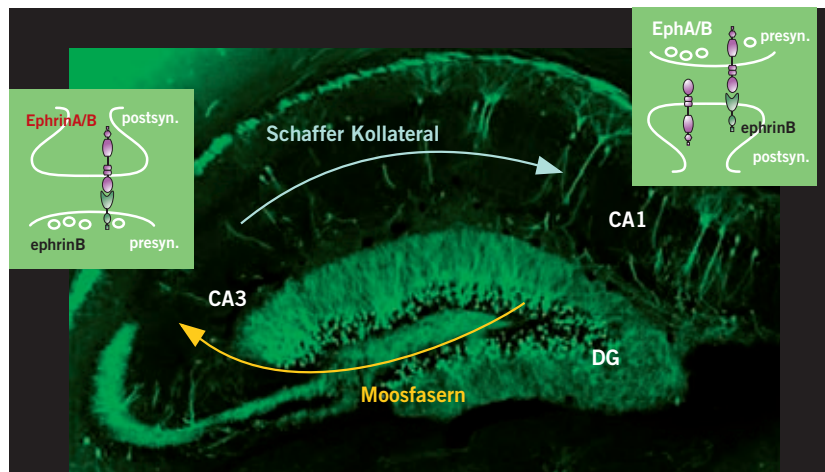
EphrinB-Liganden befinden sich an der synaptischen Membran und werden bei einem Kontakt von gegenüberliegenden Eph-Rezeptoren aktiviert. Bei der Bindung an einen Rezeptor bilden EphrinB-Liganden Cluster und rekrutieren Grb4-Moleküle, die wiederum GIT1 rekrutieren. Die GIT1/Grb4-Bindung erfordert die Phosphorylierung von Tyr392 in GIT1, vermutlich durch Src-Kinasen. Die Rekrutierung von GIT1 leitet einen Rac-Aktivierungskomplex in den synaptischen Bereich, der notwendig ist für den Gestaltwandel vom dendritischen Filopodium zum reifen Dorn und die Ausbildung von Synapsen.



EphrinB-Liganden beeinflussen die Übertragungsstärke von Synapsen

AMPA-Rezeptoren, eine Untergruppe der Glutamat-Rezeptoren, sind die Hauptüberträger synaptischer Signale an erregenden Synapsen des Gehirns. Die Stärke, mit der ein ankommendes Signal an das nachgeschaltete Neuron weitergegeben wird, hängt damit stark von der Anzahl aktiver AMPA-Rezeptoren an der Postsynapse ab. Diese öffnen sich bei präsynaptischer Transmitter-Ausschüttung und führen zur Depolarisation. AMPA-Rezeptoren zirkulieren ständig zwischen synaptischen, außer-synaptischen Membranen und intrazellulären Speichern. Dieser konstitutive Kreislauf der AMPA-Rezeptoren ermöglicht es, schnell auf Signaländerungen zu reagieren und die Zahl der synaptischen AMPA-Rezeptoren der Aktivität anzupassen.¹⁹¹

Lang anhaltende Änderungen der synaptischen Übertragung wie LTP und LTD gelten als Mechanismen der Gedächtnisbildung und basieren auf einer exakten Regulierung des AMPA-Rezeptor-Kreislaufs. Daher ist das Wissen über Regulationsmechanismen und daran beteiligten Molekülen von großer Bedeutung für die Gehirnforschung. Kürzlich konnten wir zeigen, dass EphrinB2-Liganden eine wichtige Rolle bei der Stabili-



7 Nervenbahnen des Hippocampus. Der Hippocampus wird in verschiedene Regionen unterteilt: Der Gyrus dentatus ist die Eingangsstation für Signale aus dem Kortex. Von dort aus werden Signale zu Neuronen der CA3-Region geleitet über die sogenannten Moosfasern. Nervenzellen der CA3-Region bilden Kontakte mit Nervenzellen der CA1-Region über die Schaffer Kollateral Verbindung. Eph-Rezeptoren und Ephrine findet man post- beziehungsweise präsynaptisch an den Kontakten.

Die Autorinnen



Prof. Dr. Amparo Acker-Palmer, 40, studierte Biologie und Biochemie an der Universität von Valencia. Von 1992 bis 1996 promovierte sie am Instituto de Investigaciones Citologicas in Valencia und ging dann als Postdoc an das Molecular Biology Laboratory (EMBL) nach Heidelberg. 2001 zog sie von Heidelberg nach Martinsried bei München, wo sie die Nachwuchsforschergruppe »Signal Transduction« am Max-Planck-Institut für Neurobiologie leitete. Im November 2007 wurde sie als Professorin für »Large Synaptic

Complexes« an das Exzellenzcluster »Makromolekulare Komplexe« der Goethe-Universität berufen. Seit Februar 2009 gehört sie dem Board of Directors des Exzellenzclusters Makromolekulare Komplexe an. Mit ihrem Mann Prof. Till Acker, Lehrstuhl für Neuropathologie an der Universität Gießen, arbeitet sie in enger Kooperation auf dem Gebiet der Tumorigenese, bei der Eph-Rezeptoren und Ephrin-Liganden ebenfalls eine große Rolle spielen. Zusammen haben sie zwei Töchter, Alba Katharina (4) und Lotta Marlena (2).

Dr. Clara Essmann, 30, hat 1998 an der Universität Freiburg ihr Biologiestudium begonnen und 2001 nach einem Austauschjahr in

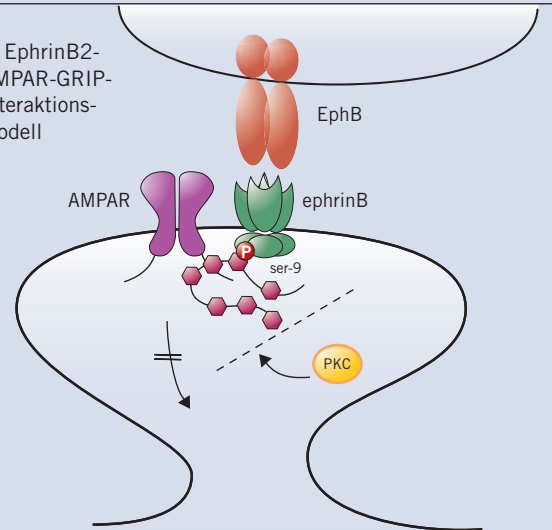


Göteborg in das Fach Molekulare Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg gewechselt. Nach Abschluss der Diplomarbeit am Nikolaus-Fiebiger-Zentrum in Erlangen arbeitete sie von 2004 bis 2008 als Doktorandin bei Prof. Acker-Palmer am Max-Planck-Institut für Neurobiologie in Martinsried und zog Mitte 2008 mit nach Frankfurt. Seit Ende 2008 arbeitet sie an der Goethe-Universität als Postdoc in Projekten der reversen Signalgebung von Ephrin-Liganden.

EphrinB2 stabilisiert AMPA-Rezeptoren

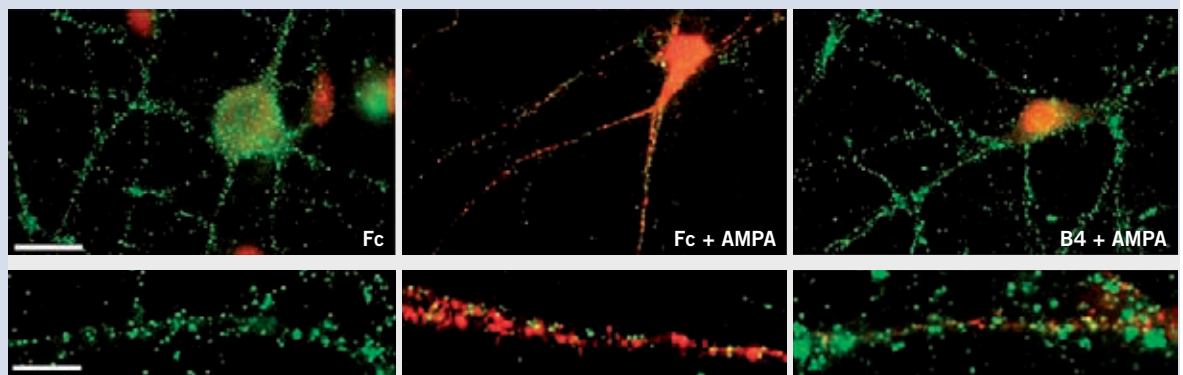
Die EphrinB2-Rückwärtssignalgebung reguliert die Endozytose von AMPA-Rezeptoren. AMPA-Rezeptoren sind die Hauptsignalüberträger an erregenden Synapsen und spielen eine große Rolle für die Gedächtnisbildung. Ihr Vorkommen an der Synapse unterliegt einer kontinuierlichen Kontrolle, die es den Nervenzellen ermöglicht, schnell auf Signaländerungen zu reagieren und die benötigten Verknüpfungen zu verstärken oder zu schwächen. Die fluoreszenz-mikroskopische Aufnahme (unten) zeigt AMPA-Rezeptoren an der Oberfläche (grün) und solche, die durch Aktivierung endozytiert worden sind (rot). Wird im Laborversuch eine Zelle mit AMPA stimuliert, kommt es zu einer verstärkten Endozytose von AMPA-Rezeptoren. Werden gleichzeitig EphrinB2-Liganden aktiviert, stabilisieren sie die AMPA-Rezeptoren an der Oberfläche (mittleres Bild im Vergleich zum rechten Bild). Das EphrinB2-AMPA-GRIP-Interaktionsmodell zeigt, wie Ephrin-Liganden AMPA-Rezeptoren an der Synapse stabilisieren. Serinphosphorylierte EphrinB2-Liganden unterstützen die Bindung von GRIP an

Das EphrinB2-AMPA-GRIP-Interaktionsmodell



die Untereinheit GluR2 des AMPA-Rezeptors. Die Phosphorylierung von GluR2 an Ser880 und die Internalisierung von AMPA-Rezeptoren ist inhibiert.

Fluoreszenz-mikroskopische Aufnahme von AMPA-Rezeptoren



Literatur

- ^{11/} Lippman J and Dunaevsky A (2005) *Dendritic spine morphogenesis and plasticity*. *J Neurobiol* 64(1):47–57.
- ^{12/} Akins MR and Biederer T (2006) *Cell-cell interactions in synaptogenesis*. *Curr Opin Neurobiol* 16(1):83–89.
- ^{13/} Pasquale EB (2008) *Eph-ephrin bidirectional signaling in physiology and disease*. *Cell* 133(1):38–52
- ^{14/} Zimmer M, Palmer A, Kohler J and Klein R (2003) *EphB-ephrinB bi-directional endocytosis terminates adhesion allowing contact mediated repulsion*. *Nat Cell Biol* 5(10): 869–878
- ^{15/} Segura I, Essmann CL, Weinges S and Acker-Palmer A (2007) *Grb4 and GIT1 transduce ephrinB reverse signals modulating spine morphogenesis and synapse formation*. *Nat Neurosci* 10(3):301–310
- ^{16/} Donald Oding Hebb: *The Organization of Behavior: a neuropsychological approach*. Wiley, New York 1949
- ^{17/} Malinow R, Mainen ZF and Hayashi Y (2000) *LTP mechanisms: from silence to four-lane traffic*. *Curr Opin Neurobiol* 10(3):352–357
- ^{18/} Grunwald IC, Korte M, Adelman G, Plueck A, Kullander K, Adams RH, Frottscher M, Bonhoeffer T and Klein R (2004) *Hippocampal plasticity requires postsynaptic ephrinBs*. *Nat Neurosci* 7(1):33–40
- ^{19/} Malenka RC (2003) *Synaptic plasticity and AMPA receptor trafficking*. *Ann N Y Acad Sci* 1003:1–11
- ^{110/} Essmann CL, Martinez E, Geiger JC, Zimmer M, Traut MH, Stein V, Klein R and Acker-Palmer A (2008) *Serine phosphorylation of ephrinB2 regulates trafficking of synaptic AMPA receptors*. *Nat Neurosci*.

sierung von AMPA-Rezeptoren an der Synapse spielen. Die Aktivierung der Liganden mit spezifischen, löslichen Rezeptor-Molekülen konnte die Internalisierung von AMPA-aktivierten Rezeptoren verhindern. Fehlte EphrinB2 in den Neuronen, waren die basale AMPA-Rezeptor-Internalisierungsrate zu hoch und die synaptische Übertragung vermindert. Der molekulare Mechanismus beruht auf dem Brückenmolekül GRIP (glutamate receptor interacting protein), das EphrinB2 mit dem AMPA-Rezeptor verlinkt und somit an der Oberfläche stabilisiert.

Die Fähigkeit des Gehirns, sich anzupassen oder plastisch zu sein, beruht darüber hinaus auf der Modularität des Netzwerkes. Dendritische Dornen unterliegen einem ständigen Wechsel zwischen Bildung und Abbau, vor allem während der Gehirnentwicklung, aber auch nach Gehirnschädigungen. Da Ephrine und Eph-Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der Dornenbildung während der Gehirnentwicklung spielen, könnten sie auch bei Heilungsprozessen nach Verletzungen beteiligt sein. Dies ist, vor allem im Hinblick auf die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze, eine spannende Hypothese.