

Wie kommt es zur Schichtung im Hippocampus?

Michael Frotscher, Shanting Zhao und Eckart Förster

Zusammenfassung

Die Hippocampusformation ist durch eine klare Schichtung der Zellen und Fasern gekennzeichnet. Im Gyrus dentatus sind dem Körnerzellband Assoziations- und Commissurenfasern (A/C-Fasern) und entorhinale Afferenzen aufgelagert. Dabei besteht eine scharfe Grenze zwischen entorhinalen und A/C-Fasern. Die entorhinalen Fasern in der äußeren Molekularschicht endigen an den distalen Dendriten der Körnerzellen und die A/C-Fasern in der inneren Molekularschicht an proximalen Dendritenabschnitten. Wie wird diese Präzision der Zell- und Faserschichtung kontrolliert?

Wir haben kürzlich gezeigt, dass die A/C-Fasern ihre Schicht über Signalmoleküle an den Dendriten der Körnerzellen finden. Anders die entorhinalen Afferenzen: Hier spielen Moleküle der extrazellulären Matrix wie Hyaluronsäure und assoziierte Moleküle eine entscheidende Rolle. Die Schichtung der Körnerzellsomata wird durch das Glycoprotein Reelin bestimmt. Bei der Reeler-Maus, der Reelin fehlt, ist die Schichtung der Körnerzellsomata aufgehoben. Unsere Befunde deuten darauf hin, dass diese Migrationsstörung aus einer Fehldifferenzierung der Radialglia resultiert, die für neuronale Migration benötigt wird.

Abstract

How is hippocampal lamination controlled?

The hippocampal formation is characterized by a clear-cut lamination of its cells and fibers. In the dentate gyrus the lamination of the granule cells is accompanied by the sharply segregated termination of entorhinal afferents and commissural/associational (C/A) fibers. Entorhinal fibers in the outer molecular layer terminate on distal granule cell dendrites, whereas C/A fibers impinge on proximal dendritic segments. How is this precise lamination of cells and fibers controlled?

We have recently shown that C/A fibers find their termination zone via molecules on granule cell dendrites. In contrast, entorhinal afferents are guided by molecules of the extracellular matrix such as hyaluronan and molecules associated with it. The lamination of granule cell somata is controlled by the glycoprotein Reelin. In the mouse mutant reeler lacking Reelin, the lamination of granule cells is lost. Our findings suggest that this migration defect results from a malformation of the radial glia required for neuronal migration.

Key words: developmental neurobiology; dentate gyrus; neuronal migration; radial glia; axonal pathfinding

Einleitung

Verglichen mit dem Neokortex fällt beim Hippocampus der einfachere Aufbau und die klare Schichtung der Pyramidenneurone und Körnerzellen auf. Beide Arten von Nervenzellen bilden jeweils ein einzelnes Zellband. Besonders ausgeprägt ist die strukturelle Gliederung im Gyrus dentatus. Die dicht gepackten Zellkörper der Körnerzellen trennen die Molekularschicht von der Hilusregion. In die Molekularschicht dehnen sich die Körnerzeldendriten aus. Die überwiegende Mehrzahl der Körnerzellen weist keine Basaldendriten auf; von der Basis des Zellkör-

pers entspringt jedoch das Axon, die Moosfaser, die in die Hilusregion zieht. Damit trennt das Zellband gleichsam die Inputseite, repräsentiert durch die Körnerzeldendriten in der Molekularschicht, von der Outputseite, dem Axon, das durch die Hilusregion zu den Pyramidenzellen der CA3-Region zieht. Die auf die Körnerzeldendriten auftreffenden Afferenzen in der Molekularschicht sind weiter untergliedert. An den proximalen Dendritenabschnitten endigen die Assoziations- und Commissurenfasern (A/C-Fasern), während an den distalen Dendritenabschnitten in der äußeren Molekularschicht die Afferenzen aus der entorhinalen

Rinde synaptische Kontakte ausbilden. Bemerkenswert ist die scharfe Grenze, die zwischen beiden afferenten Fasersystemen besteht (Abbildung 1). Es stellt sich die Frage, wie diese geordnete Organisation, wie die Schichtung der Afferenzen und die Schichtung der Körnerzellsomata während der ontogenetischen Entwicklung entstehen. Welche Moleküle kontrollieren die Migration der Körnerzellen und ihre Anordnung in einem dicht gepackten Zellband? Welche Faktoren determinieren das schichtenspezifische Einwachsen der A/C-Fasern und der entorhinalen Axone?

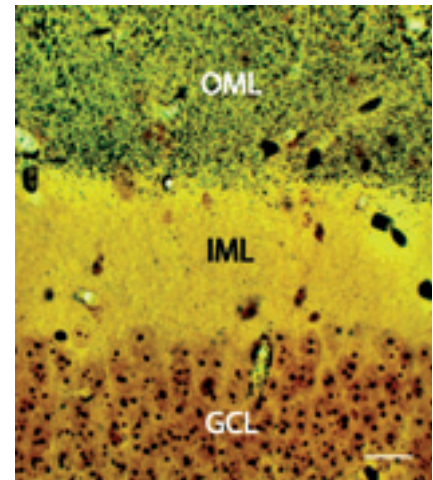


Abb. 1. Ausschnitt aus dem Gyrus dentatus der Ratte zur Darstellung der Zell- und Faserschichtung. Entorhinale Afferenzen in der äußeren Molekularschicht (OML) sind durch ihre anterograde Degeneration nach Läsion des entorhinalen Kortex markiert (Fink-Heimer-Technik). Die innere Molekularschicht (IML), die A/C-Fasern enthält, ist nicht markiert. Die Körnerzellschicht (GCL) enthält die dicht gepackten Zellkörper der Körnerzellen. Maßstab: 20 μm (aus Frotscher and Heimrich 1993; copyright (1993) National Academy of Sciences, USA).

Die hippocampale Schnittkultur als Modellsystem

Um diese Fragen anzugehen, verwenden wir im Labor seit vielen Jahren organotypische Schnittkulturen der Hippocampusformation. Eine Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieses Modellsystems war natürlich, dass sich sowohl die Schichtung der Körnerzellsomata als auch die Schichtung der beiden afferenten Fasersysteme, der C/A-Fasern und der entorhinalen Afferenzen, unter diesen *in vitro*-Bedingungen entwickeln würden. Abbildung 2 belegt, dass dies der Fall ist. Wie in Abbildung 1 sind die entorhinalen Afferen-



zen dieser Komplexkultur, bestehend aus entorhinalem Kortex und Hippocampus, markiert. Wie im perfusionsfixierten Gehirn terminieren die entorhinalen Afferenzen in der äußeren Molekularschicht; die innere Molekularschicht, das Endigungsgebiet der A/C-Fasern, ist ausgespart. Die Körnerzellsomata bilden ein dicht gepacktes Band. Färbt man nicht die entorhinalen Afferenzen, sondern die A/C-Fasern mit einem anterograd transportierten Marker an, ist entsprechend die innere Molekularschicht gefärbt, während die äußere Molekularschicht ausgespart bleibt. Auch die Bipolarität der Körnerzellen bildet sich wie unter *in vivo*-Bedingungen heraus. Golgi-Imprägnierungen zeigen zudem, dass auch unter den Bedingungen der Schnittkultur die Körnerzeldendriten dicht mit Spines, charakteristischen postsynaptischen Elementen, besetzt sind (Frotscher et al. 1995). Die Schlussfolgerung ist gerechtfertigt, dass auch unter diesen *in vitro*-Bedingungen die Signale vorhanden sind, die die charakteristische Schichtung der Körnerzellen und ihrer Afferenzen regulieren.

Wie kommt es zur Faserschichtung im Gyrus dentatus?

Vorauszuschicken ist hier, dass es möglicherweise zweckdienlich ist, den Prozess der Schichtenbildung von jenem der axonalen Wegfindung abzugrenzen. Verschiedene Moleküle, die über Abstoßung und Anziehung die Navigation des Wachstumskolbens am Ende auswachsender Axone steuern, sind bekannt und haben auch Bedeutung für die Wegfindung entorhinaler Axone und der A/C-Fasern. Der Leser findet eine gute Zusammenfassung der verschiedenen Befunde in einer Übersichtsarbeit von Skutella und Nitsch (2001). Wir fanden u. a. heraus, dass früh gebildete Cajal-Retzius-Zellen in der äußeren Molekularschicht der Fascia dentata eine axonale Projektion zum entorhinalen Kortex ausbilden, die den später auswachsenden entorhinalen Afferenzen als Leitstruktur dient (del Rio et al. 1997; Frotscher 1998; Ceranik et al. 1999). Wie aber orientiert sich das entorhinale Axon oder die A/C-Faser in der Molekularschicht? Wie kommt es zur Ausbildung der klaren Trennung zwischen diesen beiden Fasersystemen? Gradienten, die von löslichen Molekülen aufgebaut werden, scheinen nicht geeignet, eine solche scharfe Grenzziehung zwischen beiden Afferenzen herzustellen. Könnten Moleküle der extrazellulären Matrix eine Rolle spielen? Gibt es Rezeptormoleküle für die commissuralen Afferenzen an den proximalen Dendritensegmenten der

Körnerzellen und andersartige Rezeptoren für die entorhinalen Fasern an den distalen Dendriten?

Untersuchungen von Bayer und Altman (Bayer und Altman 1987) hatten gezeigt, dass früh einwachsende Afferenzen im Hippocampus regelmäßig an den distalen Dendritensegmenten endigen, während später einwachsende Fasern proximale Dendritensegmente bevorzugen. Bayer und Altman haben daraufhin die Hypothese aufgestellt, dass die Schichtung der Afferenzsysteme durch die Sequenz ihres Einwachsens bedingt sei. Wir haben zunächst diese Hypothese einer Testung unterzogen und gefragt, ob eine Umkehr der Sequenz des Einwachsens der beiden Hauptafferenzen des Gyrus

Allerdings änderte sich diese Zonierung auch dann nicht, als wir die Sequenz der Co-kultivation änderten und nun zunächst der hippocampalen Zielkultur commissurale Afferenzen und dann, zeitversetzt, entorhinale Afferenzen anboten. Mit klarer Grenzziehung endeten die entorhinalen Afferenzen weiterhin in der äußeren Molekularschicht und die A/C-Fasern in der Innenzone. Die „zeitliche Hypothese“ der Schichtenbildung musste verworfen werden (Frotscher und Heimrich 1993).

Als nächstes wandten wir uns der Frage zu, ob unterschiedliche Rezeptoren für die beiden Fasersysteme an den Dendriten der Körnerzellen vorkommen. Wäre dies der Fall, dann wäre die parallele Schichtung der

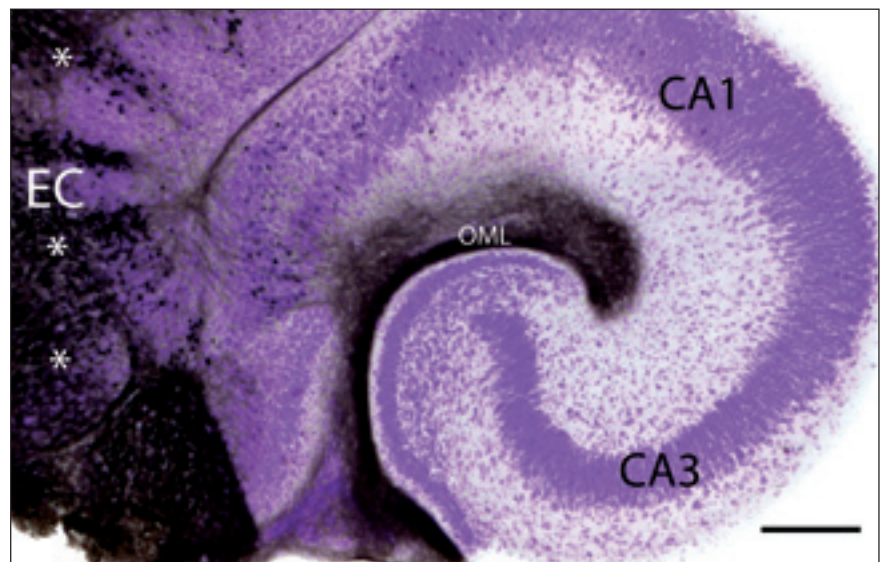


Abb. 2. In einer Komplexkultur von entorhinalem Kortex und Hippocampus bleibt die schichtenspezifische Endigung entorhinaler Afferenzen in der äußeren Molekularschicht erhalten. Entorhinale Afferenzen sind hier mit dem anterograd transportierten Tracer Biocytin markiert (schwarz). EC, entorhinaler Kortex; OML, äußere Molekularschicht mit Biocytin-markierten entorhinalen Fasern. Die Sterne markieren den Applikationsort des Tracers. Maßstab: 100 µm.

dentatus auch eine Umkehr ihrer Schichtung nach sich ziehen würde. Derartige Untersuchungen sind *in vivo* schwer angebar, können aber an hippocampalen Schnittkulturen untersucht werden. Wir haben hippocampale Zielkulturen zunächst wie im normalen Entwicklungsgang mit entorhinalen Afferenzen konfrontiert und dann – mit einigen Tagen Verzögerung – C/A-Fasern durch Cokultivation mit einer weiteren Hippocampus-schnittkultur hinzugegeben. Wie nicht anders zu erwarten war, blieb bei dieser Sequenz des Einwachsens von entorhinalen Fasern und A/C-Fasern die normale Zonierung in der Molekularschicht (entorhinale Fasern außen, A/C-Fasern innen) erhalten.

entorhinalen Fasern und der A/C-Fasern durch die parallele Ausrichtung der Körnerzellen bedingt. In einer Situation, in der die Körnerzellen nicht mehr parallel angeordnet sind, müsste auch die Lamination der beiden Fasersysteme verloren gehen. Gibt es eine solche Situation?

Die in der neurobiologischen Forschung lange bekannte Reeler-Maus weist einen charakteristischen Migrationsdefekt der Körnerzellen auf. Die Körnerzellen sind nicht mehr in einem dicht gepackten Band angeordnet, sondern locker über die gesamte Hilusregion verstreut (Stanfield und Cowan 1979; Drakew et al. 2002). Welche Konsequenzen hat die Aufhebung der parallelen

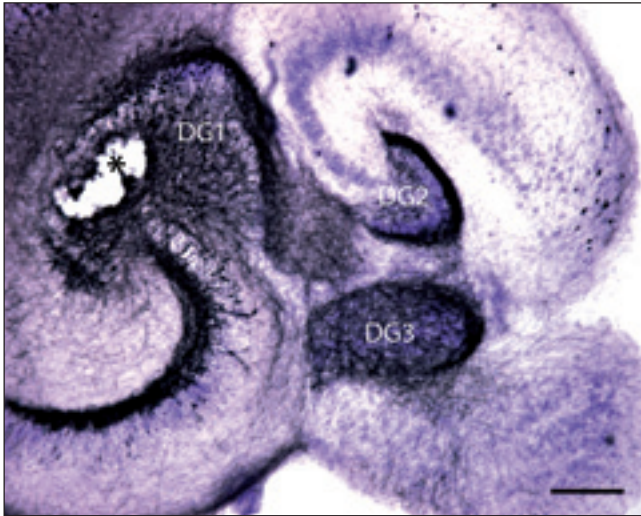


Abb. 3. Dreifachkultur zur Darstellung der Zielzellabhängigkeit commissuraler Fasern. Der Stern markiert den Injektionsort des Tracers. Von der linken Wildtyp-Kultur (DG1) ausgehende „commissurale“ Fasern terminieren in einer zweiten Wildtyp-Kultur (DG2) schichtenspezifisch in der inneren Molekularschicht. Kollateralen derselben Axone terminieren dagegen diffus in einer gleichfalls kokultivierten Reeler-Schnittkultur (DG3), in der auch die Zielzellen, die Körnerzellen des Gyrus dentatus, wegen eines Migrationsdefektes diffus verteilt sind. Maßstab: 100 μ m (aus Zhao et al. 2003; copyright (2003) by the Society for Neuroscience).

Anordnung der Körnerzellen für die Schichtung von entorhinalen Fasern und A/C-Fasern? Auch für diese Fragestellung haben wir wieder organotypische Schnittkulturen herangezogen. Wir haben Schnitte von Wildtypmäusen mit Schnitten von Reeler-Mäusen kokultiviert, um auszuschließen, dass es einen Effekt der Reeler-Mutation auf die projizierenden Neurone selbst gibt. Wir konnten zeigen, dass commissurale Afferenzen aus der Wildtyp-Kultur völlig ungeordnet, diffus über die gesamte Hilusregion der Reeler-Cokultur terminierten, also der ungeordneten Verteilung der Körnerzellen, ihrer Zielzellen, folgten. Umgekehrt, wenn wir commissurale Fasern aus einer Reeler-Schnittkultur in eine Wildtyp-Kultur hineinverfolgten, endigten diese Axone schichtenspezifisch unter Ausbildung eines kompakten, klar abgegrenzten Bandes ganz normal in der inneren Molekularschicht. Ein zellautonomer Effekt der Reeler-Mutation auf die commissuralen Neurone selbst konnte damit verneint werden; vielmehr deuten die Befunde darauf hin, dass die commissuralen Axone sich an der Position ihrer Zielzellen orientieren (Zhao et al. 2003). Abbildung 3 verdeutlicht in anschaulicher Weise dieses Ergebnis: Commissurale Afferenzen aus einer Wildtyp-Kultur endigen in einer kokultivierten zweiten Wildtyp-Kultur schichtenspezifisch in der inneren Molekularschicht, während Kollateralen derselben Axone völlig ungeordnet in der Fascia dentata einer gleichfalls kokultivierten Reeler-Kultur terminieren. Es bietet sich die Schlussfolgerung an, dass die A/C-Fasern ihren Zielzellen folgen, dass offensichtlich molekulare Interaktionen zwischen den Axonendigungen der A/C-Fasern und den Dendriten der Körnerzellen die Schichtung dieser Affferenz bedingen.

Wie aber sieht es mit den entorhinalen Fasern aus? Zu unserer Überraschung fanden wir, dass die entorhinalen Afferenzen ungeachtet der Fehlpositionierung ihrer Zielzellen in Schnittkulturen der Reeler-Maus ihre schichtenspezifische Termination in der äußeren Molekularschicht beibehalten, offensichtlich also ein anderes Prinzip der Schichtenerkennung als bei den A/C-Fasern. Wir erinnerten

uns daran, dass die entorhinalen Afferenzen sehr früh in den Gyrus dentatus einwachsen, etwa um den 17. Embryonaltag (Ceranik et al. 1999; Super und Soriano 1994). Bemerkenswert ist hierbei, dass die entorhinalen Afferenzen von Beginn an ihr Terminationsgebiet (die äußere Molekularschicht) erkennen, obgleich die Mehrzahl ihrer Zielzellen zu diesem Zeitpunkt noch gar nicht gebildet worden ist. Bekanntlich werden die meisten Körnerzellen erst postnatal geboren. Eigentlich deutete schon diese zeitliche Diskrepanz an, dass die Schichtenerkennung der entorhinalen Afferenzen nicht von Erkennungsmolekülen auf den Zielzellen, die ja zum Zeitpunkt des Fasereinwachsens noch gar nicht vorhanden waren, kontrolliert werden konnte. Die Beibehaltung der Schichtenerkennung der entorhinalen Fasern in den Schnittkulturen der Reeler-Maus, bei der die Zielzellen völlig ungeordnet über den Gyrus dentatus verteilt sind, bestätigt, dass für die Lamination der entorhinalen Afferenzen ein anderer Mechanismus als für die der A/C-Fasern anzunehmen ist. Wenn nicht die Zielzellen in Frage kommen, könnte es dann sein, dass für die Schichtung der entorhinalen Afferenzen Moleküle der extrazellulären Matrix von Bedeutung sind? Wir konnten in der Tat zeigen, dass der enzymatische Abbau von Hyaluronsäure mit Hyaluronidase die Schichtenspezifität der entorhinalen Afferenzen aufhob (Förster et al. 2001; Zhao et al. 2003). Natürlich war es ein wichtiges Kontrolleexperiment zu zeigen, dass sich die schichtenspezifische Projektion der A/C-Fasern nach der Behandlung mit Hyaluronidase nicht veränderte, weil, wie ausgeführt, für deren



Schichtenerkennung von einem anderen Mechanismus auszugehen ist. Tatsächlich blieb die schichtspezifische Termination der A/C-Fasern nach Enzymbehandlung völlig unverändert, wie im übrigen auch die regionsspezifische und schichtspezifische Termination der Moosfasern (Zhao et al. 2003). Zusammengefasst hatten wir aus diesen Untersuchungen gelernt, dass unterschiedliche Mechanismen die abgegrenzte Schichtung von entorhinalen und A/C-Fasern regulieren.

Wie wird die Schichtung der Körnerzellen kontrolliert?

Wir haben bereits gesehen, dass bei der Reeler-Maus die dichte Packung der Körnerzellen aufgehoben ist; die Körnerzellen liegen über den gesamten Gyrus dentatus verstreut. Es liegt ein Defekt im Reelin-Gen vor, das für ein Protein der extrazellulären Matrix (ECM) codiert. Reelin ist ein Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 400 kD, das von Cajal-Retzius (CR)-Zellen der Marginalzone der Hirnrinde gebildet wird. Im Hippocampus liegen die Cajal-Retzius-Zellen in der Umgebung der *Fissura hippocampi*, d. h. im *Stratum lacunosum-moleculare* und in der äußeren Molekularschicht der Fascia dentata. Da die Körnerzellmigration bei Abwesenheit von Reelin gestört ist, müssen wir fragen, wie denn Reelin die Migration der Körnerzellen und ihre Anordnung im Körnerzellband kontrolliert. Um hier einer Antwort näher zu kommen, haben wir den Streifenassay zum Studium auswachsender Nervenfasern nach Bonhoeffer (Walter et al. 1987) als Zellmigrationsassay zur Untersuchung der Rolle von Reelin adaptiert. Rekombinantes Reelin haben wir im Überstand von kultivierten 293-Zellen angereichert, die mit der vollständigen Reelin cDNA transfiziert worden waren. Wir haben dann Streifen mit reelinhaltigem Medium beschichtet, Kontrollstreifen mit reelinfreiem Kontrollmedium, und anschließend Schnittkulturen auf der Streifenmatrix inkubiert. Die Zellen, die aus den Schnittkulturen auswanderten, wurden mit Hilfe neuronaler oder glialer Marker identifiziert. Zu unserer Enttäuschung fanden wir jedoch nur wenige auswandernde Neurone und keine Präferenz dieser Neurone für die Reelinstreifen oder die Kontrollstreifen. Ein anderes Bild zeigte sich allerdings, wenn wir die aus den Schnittkulturen auswandernden Zellen mit einem Antikörper gegen den Gliamarker GFAP (glial fibrillary acidic protein) anfärbten. GFAP-positive Zellen fanden sich bevor-

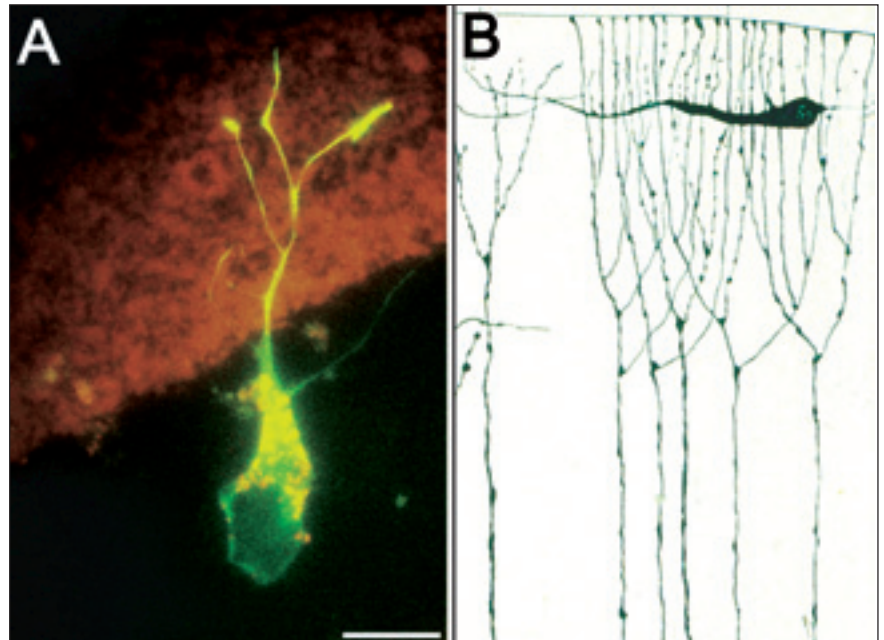


Abb. 4. Verankerung der Radialgliazellen in der Marginalzone. (A) GFAP-positive Gliazelle, die einen Fortsatz in Richtung auf einen Reelin-haltigen Streifen (rote Fluoreszenz) abgibt. Auf dem Reelin-Streifen verzweigt sich dieser Fortsatz mehrfach (Anzahl der Verzweigungspunkte von GFAP-positiven Fortsätzen signifikant höher auf dem Reelin-Streifen im Vergleich mit dem Kontrollstreifen, vgl. Förster et al. 2002). Maßstab: 20 μ m. (B) Bereits Retzius (1893) beobachtete, dass sich Radialgliafasern in der Marginalzone, die Cajal-Retzius-Zellen (horizontales Neuron) und Reelin enthält, stark verzweigen und dadurch die langen Radialgliafortsätze in der Marginalzone verankern (aus Förster et al. 2002; copyright (2002) National Academy of Sciences, USA).

zugt auf den Reelinstreifen. Wenn Schnitte aus der Reeler-Maus verwendet wurden, war der Effekt sogar noch verstärkt, vermutlich deshalb, weil das rekombinante Reelin auf den Streifen nun nicht mehr mit dem nativen Reelin aus der Schnittkultur konkurrierte. Wir interpretierten den Befund dahin gehend, dass, zumindest in diesem Assay-System, migrierende GFAP-positive Zellen, nicht aber Neurone auf Reelin reagieren. Nachzutragen ist, dass während der Hippocampusentwicklung Antikörper gegen GFAP nicht nur Astrozyten, sondern auch Radialgliazellen markieren. Wir konnten in diesem Zusammenhang auch zeigen, dass ein wichtiges Signalmolekül der Reelin-kaskade in Neuronen, Disabled1 (Dab1), auch in GFAP-positiven Radialgliazellen exprimiert wird (Förster et al. 2002). Wir stellten daraufhin die Hypothese auf, dass Reelin auch auf Radialgliazellen als Signalmolekül wirkt und dass mit dem Fehlen von Reelin bei der Reeler-Maus auch ein Defekt der Radialgliadifferenzierung verknüpft sein könnte. In der Tat fanden wir in Hirnschnitten der Reeler-Maus ein fast völliges Fehlen des Radialgliagerüsts im Gyrus dentatus (Förster et al. 2002; Weiss et al. 2003; Frotscher et al. 2003). Wir

schlussfolgerten, dass der Migrationsdefekt der Körnerzellen bei der Reeler-Maus zumindest zum Teil durch eine Fehlbildung des Radialgliagerüsts, das bekanntlich für die regelrechte neuronale Migration erforderlich ist (Rakic 1972), verantwortlich sein könnte. Erste Untersuchungen der Arbeitsgruppe weisen einen Weg, wie man sich die Wirkung von Reelin auf die Differenzierung des Radialgliagerüsts vorstellen kann (Abbildung 4). GFAP-positive Zellen zeigten nicht nur eine Präferenz für Reelin-beschichtete Streifen, sondern ihre Fortsätze verzweigten sich auch signifikant häufiger auf Reelinstreifen als auf Kontrollstreifen (Abbildung 4A, Förster et al. 2002). Dieser Befund erinnert an alte Abbildungen von Gustaf Retzius (Abbildung 4B), der in Golgi-Imprägnationen beobachtete, dass Radialgliafasern, sobald sie in die Marginalzone eintreten und dort auf Cajal-Retzius-Zellen treffen, sich stark verzweigen. Wir wissen heute, dass diese Marginalzone Reelin enthält. Es liegt die Hypothese nahe, dass beim Fehlen von Reelin das auf die Marginalzone ausgerichtete Wachstum der Radialgliafasern und ihre Verästelung in dieser Zone – und damit auch ihre Verankerung – ausbleiben. Das Ergebnis ist ein Kollaps des

Radialgliaerüsts; die Leitschienen für die neuronale Migration (Rakic 1972) stehen nicht mehr zur Verfügung, wie wir es am Beispiel des Gyrus dentatus der Reeler-Maus vorgefunden haben. Man kann sich also die Migrationsstörung bei der Reeler-Maus auch als ein Ergebnis der Fehldifferenzierung der Radialgliazellen vorstellen. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Magdalena Goetz haben wir kürzlich auch Effekte von Reelin auf Radialgliazellen des Neokortex, nicht aber der Basalganglien, nachweisen können (Hartfuss et al. 2003).

Offene Fragen

Wir haben gesehen, dass unterschiedliche Faktoren für die Schichtenbildung entorhinaler Fasern und der A/C-Fasern verantwortlich sind. Während im Falle der A/C-Fasern von einer engen Wechselwirkung zwischen Axonendigung und postsynaptischem Dendrit auszugehen ist, spielen bei der Schichtenerkennung entorhinaler Afferenzen Moleküle der extrazellulären Matrix eine maßgebliche Rolle. Welche Moleküle sind es, die als Liganden bzw. Rezeptoren bei der Schichtenerkennung der A/C-Fasern wirksam werden? Hyaluronsäure, deren Abbau zum Verlust der Schichtenspezifität entorhinaler Afferenzen führt, ist vermutlich nicht das entscheidende Signalmolekül der extrazellulären Matrix für die Orientierung der entorhinalen Fasern. Vielmehr haben erste Untersuchungen Hinweise darauf geliefert, dass mit Hyaluronan assoziierte Chondroitinsulfatproteoglykane, wie beispielsweise Neurocan, eine entscheidende Rolle spielen (Förster et al. 2001; Zhao et al. 2003). Unsere Befunde weisen zwar darauf hin, dass Reelin wichtig für die Ausbildung des Radialgliaerüsts im Gyrus dentatus ist und dass der Migrationsdefekt der Körnerzellen bei der Reeler-Maus zumindest zum Teil durch das Fehlen des Radialgliaerüsts verursacht wird. Auch hier sind viele Fragen offen. Wie muss man sich z.B. die Fehlorientierung der Körnerzeldendriten bei der Reeler-Maus erklären? Hat Reelin auch einen Effekt auf die Dendritendifferenzierung? Auch beim Menschen gibt es eine der Reeler-Maus vergleichbare Migrationsstörung der Körnerzellen, die sog. Körnerzelldispersion, die bei der epilepsieassoziierten Ammonshornsklerose vorkommt. Gibt es auch Veränderungen des Radialgliaerüsts bei diesen Patienten? Erste Untersuchungen haben bereits Hinweise darauf geliefert, dass Störungen der Reelinexpression im Gyrus den-

tatus von Epilepsiepatienten mit Körnerzelldispersion vorliegen (Haas et al. 2002). Es ist eigentlich wie immer, neue Ergebnisse werfen auch neue Fragen auf. Aber auch diese Fragen werden wir angehen können.

Literatur

- del Rio, J.A., Heimrich, B., Borrell, V., Förster, E., Drakew, A., Alcantara, S., Nakajima, K., Miyata, T., Ogawa, M., Mikoshiba, K., Derer, P., Frotscher, M. and Soriano, E. (1997): A role for Cajal-Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature* 385: 70-74.
- Förster, E., Zhao, S. and Frotscher, M. (2001): Hyaluronan-associated adhesive cues control fiber segregation in the hippocampus. *Development* 128: 3029-3039.
- Förster, E., Tielsch, A., Saum, B., Weiss, K.H., Johansen, C., Graus-Porta, D., Müller, U. and Frotscher, M (2002): Reelin, Disabled 1, and beta1 integrins are required for the formation of the radial glial scaffold in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 99: 13178-13183.
- Frotscher, M. (1998): Cajal-Retzius cells, Reelin, and the formation of layers. *Curr. Opin. Neurobiol.* 8: 570-575.
- Zhao, S., Förster, E., Chai, X. and Frotscher, M. (2003): Different signals control laminar specificity of commissural and entorhinal fibers to the dentate gyrus. *J. Neurosci.* 23: 7351-7357.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagung

Den Mitarbeitern der Abteilung I am Anatomischen Institut in Freiburg, derzeitigen wie ehemaligen, namentlich Frau Prof. Carola A. Haas, Herrn Prof. Thomas Deller, Herrn Prof. Bernd Heimrich, danken wir für viele Anregungen und Kommentare. Die Untersuchungen wurden von der DFG unterstützt (SFB 505, Transregio-SFB TR-3).

Kurzbiographien

Michael Frotscher: Studium der Medizin an der Humboldt-Universität Berlin. Wissenschaftlicher Assistent am Anatomischen Institut der Humboldt-Universität und Promotion zum Dr. med. an der Humboldt-Universität 1974. Postdoc am 1st Department of Anatomy, Semmelweis University Budapest, Ungarn. 1979 – 1981 Forschungsstipendiat der Max-Planck-Gesellschaft am MPI für Hirnforschung, Frankfurt/Main. Habilitation an der Universität Frankfurt/

Main 1981. 1982 Professur (C 2) für Anatomie an der Universität Heidelberg, 1983 – 1989 C 3-Professur am Zentrum der Morphologie, Universität Frankfurt/Main. Seit 1989 Direktor der Abteilung I des Instituts für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg.

Shanting Zhao: Studium der Medizin am Binzhou Medical College und am Xinjiang Medical College in China. Von 1988 – 1998 Lecturer am Department of Histology and Embryology, Xinjiang Medical College. 1997 – 2000 Doktorand am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg, Promotion 2001. Seit 2001 Postdoc am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg.

Eckart Förster: Studium der Biologie in Freiburg und Toulouse. Untersuchungen für die Diplomarbeit in Ann Arbor/Michigan, USA. 1991 – 1994 Doktorarbeit am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg und anschließend Postdoc an diesem Institut. Seit 2003 Hochschulassistent (C 1); das Habilitationsverfahren wurde kürzlich eröffnet.

Korrespondenzadresse

Michael Frotscher, Shanting Zhao, Eckart Förster
 Institut für Anatomie und Zellbiologie I
 Universität Freiburg
 Albertstr. 17
 D-79104 Freiburg
 Tel.: ++49 (0) 761 203 5056
 Fax: ++49 (0) 761 203 5054
 e-mail: Michael.Frotscher@anat.uni-freiburg.de