



Was sind und was können olfaktorische Hüllzellen tatsächlich?

Konstantin Wewetzer und Gudrun Brandes

Zusammenfassung

Olfaktorische Hüllzellen (olfactory ensheathing cells, OECs) sind Schwann-Zell-ähnliche Gliazellen des olfaktorischen Systems mit regenerationsfördernden Eigenschaften. Von Cajal (1928) beschrieben und zunächst als olfaktorische Schwann-Zellen eingeordnet, werden OECs heute als ein intermediärer Zelltyp angesehen, der Eigenschaften von zentraler und peripherer Glia in sich vereint. Da OECs vorwiegend bezüglich ihrer regenerativen Effekte nach Transplantation untersucht wurden, sind viele Fragen zu ihrer Biologie unbeantwortet geblieben. Anders als zur Schwann-Zelle, deren Phänotyp während Entwicklung und Regeneration detailliert beschrieben wurde, liegen zu OECs nur vereinzelte Berichte vor. Es ist nach wie vor ungeklärt, inwiefern sich OECs von Schwann-Zellen molekular unterscheiden, und ob beide Zelltypen tatsächlich differenzielle Effekte nach Transplantation vermitteln. Der vorliegende Artikel formuliert aus der aktuellen Literatur drei Hypothesen zur Identität und regenerativen Kapazität von OECs. Die Diskussion dieser Hypothesen kann die Frage, was genau OECs „sind“ und was sie tatsächlich „können“ nicht abschließend klären, soll jedoch helfen, die zurzeit noch offenen Punkte zu präzisieren.

Abstract

What are and what can really do olfactory ensheathing cells?

Olfactory ensheathing cells (OECs) are Schwann cell-like glial cells of the olfactory system with regeneration-promoting properties. Characterized by Cajal (1928) and classified as olfactory Schwann cells, OECs to date are considered an intermediate glial cell type sharing properties with central and peripheral glia. Since OECs have been studied mainly regarding their *in vivo* effects following transplantation, important questions to their biology have remained open. Contrary to the Schwann cell, only fragmentary evidence is available for the OECs. It is a controversy, in how far OECs differ from Schwann cells at molecular terms and whether they in fact mediate superior effects after transplantation. Based on the current literature, this article introduces three hypotheses to the molecular identity and regenerative capacity of OECs. The discussion of these hypotheses will not clarify definitely what OECs 'are' and what they 'are capable of' but may help to define the open issues.

Key words: OEC; phenotype; regeneration; neuron-glia-interaction; olfactory system

Einleitung

Die Transplantation von die axonale Regeneration stimulierenden Zellen in das verletzte Nervensystem ist ein wichtiger Ansatz zur Überwindung der Regenerationsbarriere im ZNS. Grundlage hierfür sind Befunde von Aguayo et al. (1987), die zeigten, dass in das zentrale Nervensystem implantiertes peripheres Nervengewebe axonales Wachstum zu steigern vermag. In der Folge wurden Schwann-Zellen in Form von Nervenexplantaten und gereinigten Einzelzellsuspensionen auf ihre regenerativen Effekte hin untersucht (Harvey et al. 1995; Li und Raisman 1994). Seit einigen Jahren konzentriert sich das Interesse auf das olfaktorische System und seine glialen

Zellen, die olfaktorischen Hüllzellen (olfactory ensheathing cells, OECs), denen ein der Schwann-Zelle überlegenes regeneratives Potenzial zugeschrieben wird (Boyd et al. 2005; Barnett 2004; Ramón-Cueto und Valverde 1995). OECs sind bereits im Rahmen von Phase I-Studien Patienten implantiert worden (Féron et al. 2005; Lima et al. 2006).

Das olfaktorische System ist im Zusammenhang mit zentraler Regeneration interessant, da hier lebenslang Neurogenese erfolgt. Die olfaktorischen Neurone besitzen eine begrenzte Lebensdauer und werden kontinuierlich durch basal im Epithel gelegene Stammzellen ersetzt (Graziadei und Monti-Graziadei 1985). Die Axone der neu gebildeten olfaktorischen Neurone der adul-

ten Riechschleimhaut (Abbildung 1; Bock et al., in Vorbereitung) überwinden auf dem Weg zum Zielgebiet nicht nur die Hirnhäute, sondern navigieren auch innerhalb des Bulbus olfactorius bis zu den Glomerula, in denen sie synaptische Kontakte mit den zweiten Neuronen der Riechbahn etablieren (Field et al. 2003; Raisman 1985).

Dieses lebenslang erfolgende axonale Wachstum im adulten ZNS hat die Fantasie derer beflügelt, die sich mit der Entwicklung neuer therapeutischer Strategien zur Behandlung von Nervensystemverletzungen beschäftigen. Da olfaktorische Neurone im peripheren (Riechnerv) und zentralen (Bulbus olfactorius) Nervensystem ausschließlich mit OECs in unmittelbarem Kontakt stehen (Field et al. 2003; Raisman 1985), hat man diesen Zellen besondere wachstumsfördernde Eigenschaften zugeschrieben (Barnett 2004; Ramón-Cueto und Valverde 1995) und vorgeschlagen, sie für die Behandlung von Verletzungen des Nervensystems zu nutzen (Barnett 2004; Bartholomei und Greer 2000; Raisman 2001). Ausgehend von der Beobachtung, dass OECs, anders als Schwann-Zellen, natürlicher Bestandteil des ZNS sind, wurde für OECs eine im Vergleich zur Schwann-Zelle günstigere Verträglichkeit transplanteder Zellen postuliert (Franklin und Barnett 1997).

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, was genau OECs sind, und wie sie sich von Schwann-Zellen unterscheiden. OECs wurden bereits von Cajal beschrieben (Cajal 1928) und zunächst als olfaktorische Schwann-Zellen eingeordnet (Barber 1982). Trotz ihrer engen Verwandtschaft mit Schwann-Zellen (Ramón-Cueto und Avila 1998; Wewetzer et al. 2002) werden OECs heute aufgrund ultrastruktureller Gemeinsamkeiten mit Astrozyten als ein intermediärer Zelltyp betrachtet, der Eigenschaften von zentraler und peripherer Glia in sich vereint (Chuah und West 2002). OECs sind *in situ* unter normalen Bedingungen nicht-myelinisierend und umgreifen, anders als Schwann-Zellen, mit filigranen Zellausläufern Bündel von ca. 50-100 Axonen (Abbildung 2a, b). Sie sind darüber hinaus auch am Aufbau der Glia limitans superficialis beteiligt (Doucette 1984; Field et al. 2003; Raisman 1985). Die Zellkörper liegen hierbei peripher im Faszikel und werden von außen aufliegenden Fibroblasten durch eine Basalmembran getrennt (Doucette 1984; Field et al. 2003).

Die ausgeprägten morphologischen Unterschiede von OEC und Schwann-Zelle gehen bei der Kultivierung der Zellen verloren. Beide Zellen besitzen *in vitro* eine spindelförmige, bi- bis tripolare Morpholo-

gie (Abbildung 2c, d). Sie exprimieren die für nicht-myelinisierende Schwann-Zellen typischen Markermoleküle wie z.B. p75NTR (Abbildung 2e, f; Ramón-Cueto und Avila 1998; Wewetzer et al. 2002) und werden auch durch dieselben Wachstumsfaktoren, wie z.B. Neuregulin und Fibroblastenwachstumsfaktor-2 (FGF-2) in ihrer Proliferation gesteigert (Krudewig et al. 2006; Wewetzer et al. 2001; Yan et al. 2001). Des Weiteren spielt das Signalmolekül cAMP in beiden Zelltypen eine ähnliche Rolle. Die Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels durch Forskolin oder dibutyryl-cAMP steigert die Proliferation und beeinflusst die Genexpression auf gleiche Art und Weise in beiden Zelltypen (Jessen et al. 1991; Wewetzer et al. 2001; 2002). Befunde, nach denen *in vitro* zwei molekular und morphologisch unterschiedliche OEC-Subtypen existieren, konnten bislang nicht bestätigt werden. Die von Franceschini und Barnett (1996) beschriebene Astrozyten-ähnliche OEC wird heute als meningealer Fibroblast interpretiert (Li et al. 2003).

Eine Vielzahl von Transplantationsstudien hat in den letzten Jahren gezeigt, dass OECs nicht nur axonale Regeneration, sondern auch Remyelinisierung im ZNS und PNS fördern (Boyd et al. 2005; Raisman, 2001; Wewetzer et al. 2002).

Angesichts der bereits begonnenen klinischen Erprobung der Zellen (Féron et al. 2005; Lima et al. 2006) könnte die Frage, wie denn OECs molekular charakterisiert sind, und welche regenerativen *in vivo* Effekte sie tatsächlich besitzen als überflüssig und ihre klinische Nutzung verzögernde Detailfrage empfunden werden. Ein genauere Blick auf die Datenlage überzeugt jedoch vom Gegenteil. Trotz oder vielleicht gerade wegen der intensiven Analyse ihre *in vivo* Effekte, ist die biologische Charakterisierung der OECs unvollständig geblieben. Dies betrifft nicht nur die molekulare Identität, sondern auch die Frage, welche Signale während der Entwicklung den spezifischen Phänotyp determinieren.

Der vorliegende Artikel formuliert auf der Basis der vorliegenden Daten drei Hypothesen zur Identität und regenerativen Kapazität von OECs. Während Hypothesen I und II ein von der jeweiligen zellulären Umgebung unabhängiges regeneratives Potenzial von OECs postulieren, geht Hypothese III davon aus, dass der spezifische OEC-Phänotyp im olfaktorischen System erst durch den Kontakt mit olfaktorischen Neuronen induziert wird. Als Konsequenz hieraus leitet sich durch Hypothese I und II, nicht aber durch Hypothese III eine herausragende therapeutische Nutzung der OECs ab.

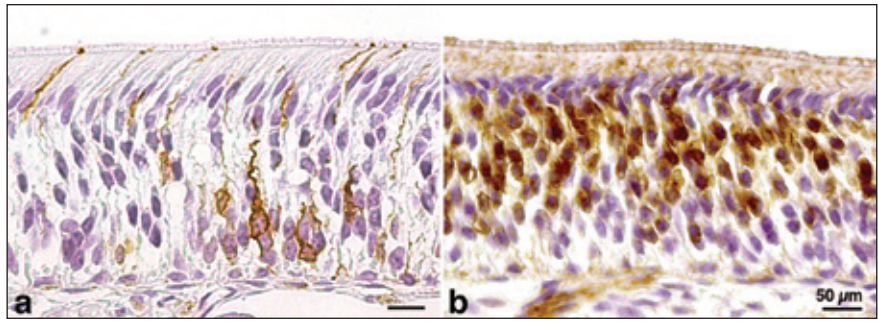


Abb. 1: Immunzytochemischer Nachweis neugebildeter olfaktorischer Neurone der Riechschleimhaut adulter Hunde mit Antikörpern gegen das HNK-1-Epitop (a). HNK-1⁺ Neurone besitzen einen apikalen Dendriten mit ausgeprägtem dendritischem Kolben. Die Gesamtpopulation reifer Neurone (b) exprimiert das olfaktorische Markerprotein (olfactory marker protein, OMP).

Hypothese I

OECs besitzen einzigartige intrinsische Eigenschaften und fördern axonales Wachstum und Remyelinisierung nach Transplantation in das ZNS.

Nach dieser Hypothese besitzen OECs besondere regenerative Eigenschaften, die denen der eng verwandten Schwann-Zelle überlegen sind. Dieses regenerative Potenzial ist intrinsisch und damit unabhängig von der jeweiligen Umgebung (Abbildung 3a-c; Raisman 2001; Ramón-Cueto und Valverde 1995). Während der Kultivierung nehmen OECs zwar eine Schwann-Zell-ähnliche Morphologie an, doch wird angenommen, dass sie sich ein spezifisches molekulares Setup bewahren (Abbildung 3b). Nach Transplantation in das verletzte Nervensystem stimulieren OECs dann nicht nur in besonderem Maße die axonale Regeneration, sondern sind auch anders als unter physiologischen Bedingungen in der Lage, Markscheiden auszubilden (Abbildung 3c). Das gebildete Myelin entspricht morphologisch und molekular dem von Schwann-Zellen gebildeten Myelin.

Grundlage dieser Vorstellung sind Arbeiten von Raisman (1985), der früh die morphologischen Besonderheiten des olfaktorischen Systems *in situ* beschrieb. Auch gehören *in vivo* Studien dieser Arbeitsgruppe zu den wenigen vorliegenden Berichten, in denen OECs und Schwann-Zellen im gleichen Läsionsparadigma auf ihre regenerative Kapazität hin vergleichend untersucht wurden (Li und Raisman 1994; Li et al. 1998). Diese Arbeiten zeigten, dass implantierte Schwann-Zellen das lokale sprouting im Rückenmark proximal der Durchtrennungsstelle förderten, während nur OECs Wachstum über dem Defektbereich hinweg ermöglichten (Li et al. 1998). Obwohl diese Aktivität von OECs in nachfolgenden Stu-

dien weiter charakterisiert wurde, fehlen weiterhin Vergleichsstudien, in denen Schwann-Zellen als Kontrolle verwendet wurden (siehe Wewetzer et al. 2002). Sind die beschriebenen Effekte auch eindrucksvoll, so ist bis heute nicht geklärt, inwieweit OECs tatsächlich für diese Effekte verantwortlich sind. Die zur Transplantation verwendeten Gesamtkulturen enthielten zu gleichen Teilen p75NTR- und Fibronectin exprimierende Zellen (Li et al. 1998). Da Fibronectin neueren Befunden zufolge *in vitro* von meningealen Zellen gebildet wird (Ibanez et al. 2007), ist davon auszugehen, dass die betreffenden Kulturen ca. 50% Fibroblasten enthielten. Diese Tatsache spricht nicht *per se* gegen die erhobenen Befunde, erschwert jedoch deren Interpretation. Es ist bekannt, dass meningeale Fibroblasten die regenerativen Effekte von OECs potenzieren können (Lakatos et al. 2003). Das in diesem Zusammenhang kritische Experiment, gereinigte Schwann-Zellen mit meningealen Fibroblasten zu versetzen und diese Mischung auf ihre regenerativen Effekte nach Implantation hin zu untersuchen, ist bislang nicht veröffentlicht worden.

Die Vorstellung, dass OECs als normaler Bestandteil des ZNS geeigneter für die Transplantation in das ZNS sein könnten als Schwann-Zellen wurde in verschiedenen Studien der Arbeitsgruppe um Susan Barnett untersucht. Astrozyten mischten sich nur mit OECs, nicht aber mit Schwann-Zellen in Kokultur (Lakatos et al. 2000; 2003a). Weiter wurden Schwann-Zellen, nicht aber OECs in der Anwesenheit von Astrozyten nekrotisch (Lakatos et al. 2000). Durch die unterschiedliche Behandlung von OECs und Schwann-Zellen mit Forskolin und Wachstumsfaktoren (Lakatos et al. 2000; 2003a) bleibt unklar, inwieweit die beobachteten Unterschiede auf die unterschiedliche Behandlung oder aber auf

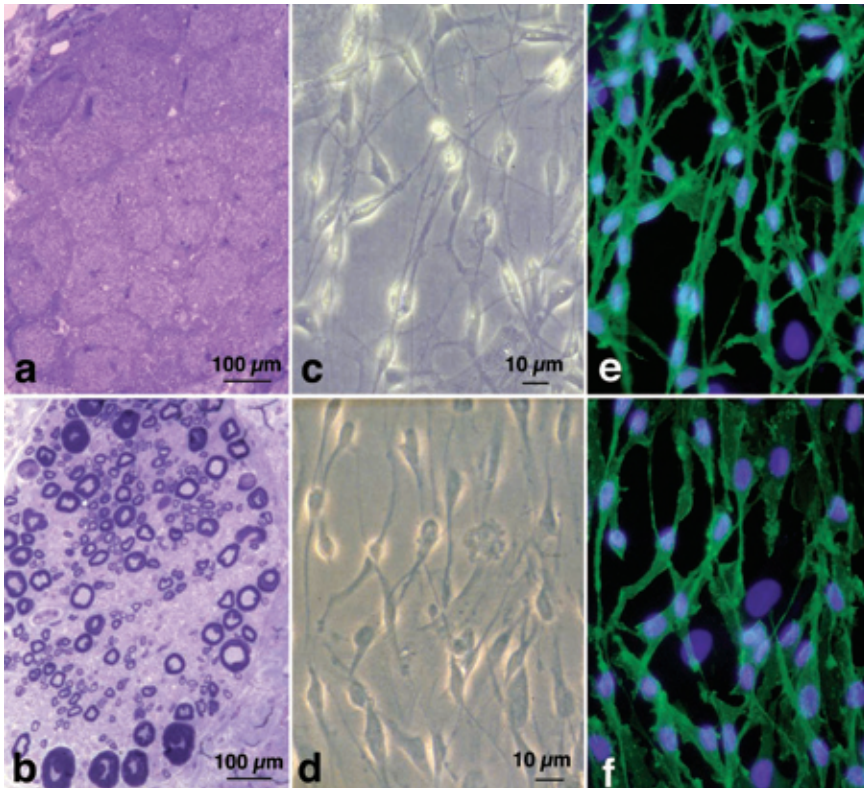


Abb. 2: OECs (a,c,e) und Schwann-Zellen (b,d,f) unterscheiden sich morphologisch *in situ* (a,b), nicht aber *in vitro* (c-f). Während OECs des Riechnervs (a) und Schwann-Zellen des peripheren Nervs (b) adulter Hunde sich in Schnitten Kunststoff-eingebetteter Präparate morphologisch unterschiedlich darstellen, besitzen OECs und Schwann-Zellen *in vitro* beide die gleiche spindelförmige Morphologie (c,d) und exprimieren den niedrig-affinen Neurotrophinrezeptor p75NTR (e,f).

unterschiedliche zelluläre Eigenschaften zurückzuführen sind.

Da bis heute keine differenziellen molekularen Marker für OEC und Schwann-Zelle identifiziert werden konnten, ist es zurzeit nicht möglich, beide Zelltypen *in vitro* selektiv zu visualisieren. Die zentrale Bedeutung dieser Frage zeigt sich in der Kontroverse um die myelinisierende Kapazität von OECs, die im Folgenden diskutiert wird. Während Hypothese I davon ausgeht, dass OECs in Gegenwart geeigneter Neurone Markscheiden ausbilden können, führt Hypothese II die beobachtete Myelinisierung auf die Präparationen kontaminierende Schwann-Zellen zurück.

Hypothese II

OECs besitzen einzigartige intrinsische Eigenschaften und fördern axonales Wachstum, nicht aber Remyelinisierung nach Transplantation in das ZNS.

Hypothese II vertritt noch konsequenter als Hypothese I die Idee eines intrinsisch programmierten OEC-Phänotyps. OECs för-

dern ebenfalls Axonwachstum unabhängig von der jeweiligen Umgebung, sprich den kontaktierenden Neuronen (siehe Hypothese I), sie sind jedoch in ihren nicht-myelinisierenden Eigenschaften derart fixiert, dass Kontakt mit vormals myelinisierten Axonen *in vitro* oder *in vivo* nicht ausreicht, um die Bildung von Markscheiden zu induzieren (Boyd et al. 2005). Der Nachweis von Myelin in Kokultur- und Transplantationsstudien wird auf kontaminierende Schwann-Zellen zurückgeführt (Abbildung 3d-f).

Devon und Doucette (1992) zeigten als Erste, dass embryonale OECs der Ratte *in vitro* Spinalganglionneurone myelinisieren. Basierend auf diesen Arbeiten wurden OECs in das Rückenmark implantiert und die Bildung von peripherem Myelin morphologisch und molekular nachgewiesen (Franklin et al. 1996; Barnett et al. 2000; Radtke et al. 2004). Befürworter von Hypothese II hielten diesen Arbeiten entgegen, die Bildung von Myelin nicht auf Einzelzellniveau nachgewiesen zu haben. Die beobachtete Myelinisierung führten sie auf die Zellpräparationen kontaminierende

Schwann-Zellen aus Hirnhäuten und Gefäßen zurück (Boyd et al. 2005). Ansätze, diese Kontroverse durch die molekulare Markierung transplanteder OECs aufzulösen, verlagerten das Problem lediglich und halfen daher nicht grundsätzlich weiter. Während die Bildung von Myelin durch transgene, das alkalische Phosphatase Marker Gen- (Akiyama et al. 2004) und GFP-exprimierenden OECs (Sasaki et al. 2004) auf Einzelzellebene nachgewiesen werden konnte, zeigten andere Autoren, dass retroviral lacZ markierte OECs nach Transplantation nicht an der Myelinisierung teilnahmen (Boyd et al. 2004). Die Autoren der negativen Befunde führten analog zur oben geschilderten Kontroverse die positiven Befunde der anderen Studien (Akiyama et al. 2004; Sasaki et al. 2004) auf Schwann-Zell-Verunreinigungen zurück (Boyd et al. 2005).

Die Frage, inwieweit es grundsätzlich möglich ist, Schwann-Zell-Kontaminationen aus Hirnhäuten und Gefäßen beim Anlegen von OEC-Kulturen zu vermeiden, kann zurzeit nicht beantwortet werden. Nach wie vor sind keine zelltypspezifischen Marker verfügbar, anhand derer kultivierte OECs und Schwann-Zellen eindeutig identifiziert werden könnten (Wewetzer et al. 2002; Wewetzer und Brandes 2006). Daher ist es weder möglich, die Reinheit von OEC-Präparationen zu überprüfen, noch kann auf Einzelzellebene widerspruchsfrei die Myelinbildung durch OECs belegt werden.

Die Suche nach zelltypspezifischen Markern ist bislang erfolglos verlaufen. Es wurden zwar kürzlich differenziell in kultivierten OECs und Schwann-Zellen exprimierte Moleküle mittels Proteomanalyse und molekularer DNA-Arrays beschrieben, doch besaßen diese Arbeiten grundsätzliche methodische Mängel (Boyd et al. 2006; Vincent et al. 2005). Durch die unterschiedliche Behandlung der kultivierten OECs und Schwann-Zellen mit Wachstumsfaktoren und Forskolin (Boyd et al. 2006) und den Vergleich embryonaler OECs mit adulten Schwann-Zellen (Vincent et al. 2005) ist es wahrscheinlich, dass die beobachteten Unterschiede auf die unterschiedlichen Kulturbedingungen oder das Entwicklungsstadium zurückzuführen sind. So wird das als spezifischer OEC-Marker beschriebene Aktin bindende Protein Calponin (Boyd et al. 2006) tatsächlich in der Mehrheit von Fibroblasten und lediglich 3% der OECs gebildet (Harvey und Plant 2006; Ibanez et al. 2007). Eigene Untersuchungen zeigen, dass das als Schwann-Zell-Marker *in vitro* und *in vivo* diskutierte HNK-1-Antigen (Bianco et al. 2004) ausschließlich von myelinisierenden

den Schwann-Zellen *in situ* exprimiert und die Expression von HNK-1 *in vitro* parallel zu der der Myelinproteine (z.B. myelin basic protein, MBP) herunterreguliert wird (Bock et al., in Vorbereitung).

Die Frage, ob transplantierte oder kultivierte OECs tatsächlich Myelin bilden können, kann zurzeit nicht abschließend beantwortet werden. Da der genaue Anteil von Schwann-Zellen in OEC-Präparationen nicht beziffert werden kann, ist nicht auszuschließen, dass die OEC-Präparationen kontaminierende Schwann-Zellen für die beobachtete Myelinisierung verantwortlich sind. Diese Einschränkung gilt jedoch nicht ausschließlich für die Frage der Myelinisierung, sondern auch prinzipiell für die immer noch ungenau definierten Axonwachstum stimulierenden Effekte von OECs (siehe Hypothese I).

Hypothese III

Der spezifische OEC-Phänotyp *in situ* ist das Resultat axonaler Kontrolle durch olfaktorische Neurone und daher nicht durch Transplantation in anderen ZNS-Arealen realisierbar.

Die bislang erfolglos verlaufende Suche nach zelltypspezifischen Markermolekülen von OEC und Schwann-Zelle ist Hypothese III zufolge nicht in methodischen Schwächen der entsprechenden Arbeiten begründet, sondern auf eine gleichartige molekulare Differenzierung beider Zelltypen *in vitro* zurückzuführen (Wewetzer und Brandes 2006). Grundlage dieser Vorstellung ist der bislang wenig diskutierte Unterschied in der Morphologie und dem molekularen Phänotyp von OECs *in vitro* und *in situ* (Wewetzer et al. 2002). Hypothese III verneint damit besondere intrinsische Eigenschaften der OEC und postuliert im Gegenteil, dass ihr spezifischer Phänotyp *in situ* erst durch Kontakt mit olfaktorischen Neuronen induziert wird (Wewetzer und Brandes 2006). Die mit der Kultivierung einhergehende Auflösung der Neuron-OEC-Interaktion führt demzufolge zum Verlust spezifischer Eigenschaften und zur Ausbildung eines Schwann-Zell-ähnlichen Phänotyps (Abbildung 3g-i). Die Transplantation dieser Zellen in das Rückenmark und der Kontakt mit Neuronen der Hinterstrangbahnen führt zur Bildung von Schwann-Zell-typischen Myelin (Abbildung 3i).

Interessanterweise ist die Frage, inwiefern olfaktorische Neurone den OEC-Phänotyp determinieren bislang kaum untersucht. Die Bedeutung der Neuron-Glia-Interaktion ist bislang hinsichtlich der Zielfindung von Axonen olfaktorischer Neurone im Bulbus

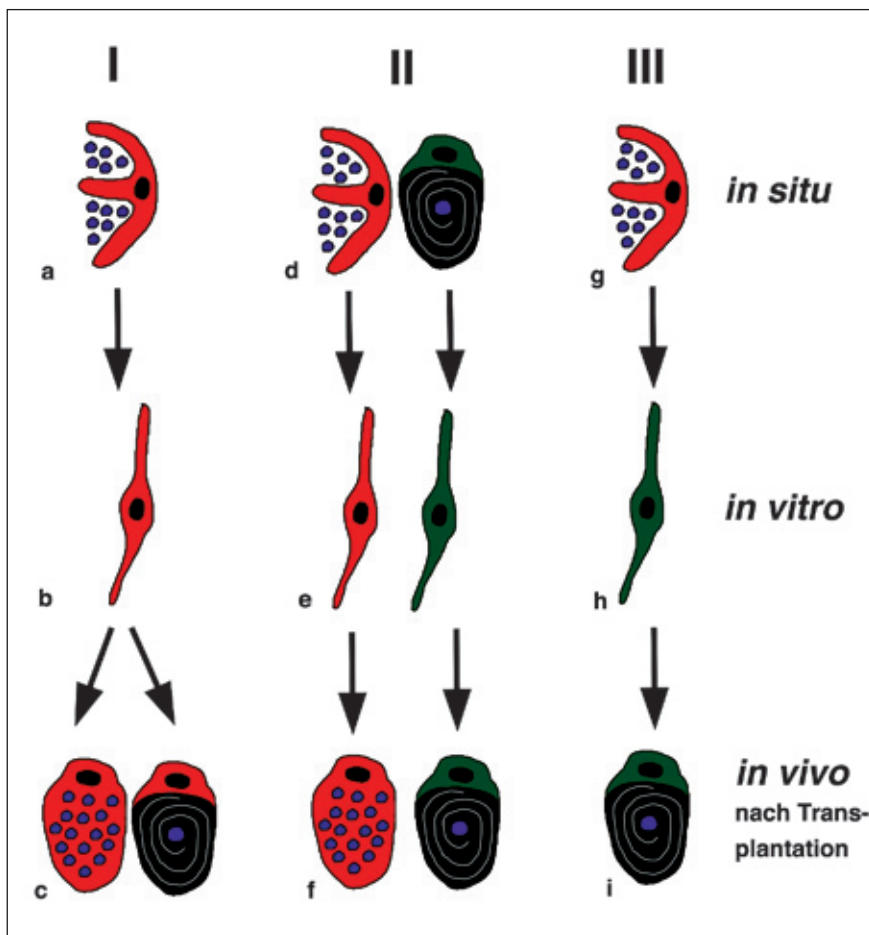


Abb. 3: Drei Hypothesen zur Identität und zum regenerativen Potenzial olfaktorischer Hüllzellen. **Hypothese I (a-c)** geht davon aus, dass der besondere morphologische und molekulare OEC-Phänotyp (rot) intrinsisches Merkmal ist. Während Kultivierung ändert sich die Morphologie, nicht aber die Genexpression der Zellen (b). Transplantation in das verletzte Rückenmark stimuliert dann in besonderer Art und Weise axonale Regeneration und Remyelinisierung (c). **Hypothese II (d-f)** führt die Stimulierung axonaler Regeneration durch OECs ebenfalls auf intrinsische Eigenschaften zurück, macht aber für die nach Transplantation beobachtete Remyelinisierung (f) Schwann-Zell-Kontaminationen der transplantierten OEC-Kulturen (e) verantwortlich. **Hypothese III (g-i)** verneint besondere intrinsische Eigenschaften kultivierter und transplantierte OECs und führt ihre besondere Differenzierung *in situ* (g) auf die induzierende Kapazität olfaktorischer Neurone zurück. Der Verlust der Neuron-OEC-Interaktion während der Kultivierung führt zum Verlust des spezifischen OEC-Phänotyps (z.B. Heraufregulierung der p75NTR Expression) und zur Ausprägung eines Schwann-Zell-Phänotyps (h), dessen Transplantation zur Schwann-Zell-ähnlichen Myelinisierung führt (i).

olfactorius diskutiert worden (St John et al. 2002). Dies überrascht umso mehr, da die Bedeutung axonaler Signale für die Differenzierung der mit OECs eng verwandten Schwann-Zellen seit Jahren Gegenstand intensiver Untersuchungen ist (Jessen und Mirsky 2002; Taylor und Suter 1997). So wurde kürzlich Neuregulin-1 als eines der seit Langem postulierten axonalen Signale identifiziert (Michailov et al. 2004), die die Myelinisierung der Schwann-Zelle kontrollieren. Darüber hinaus ist seit Längerem bekannt, dass die Genexpression der nicht-

myelinisierenden Schwann-Zellen ebenfalls axonaler Kontrolle unterliegt (Jessen et al. 1987; Lee et al. 1997; Jirounek et al. 2002). So postulierten Lee et al. (1997) die Gegenwart eines die Myelinisierung unterdrückenden Signals, da der Verlust axonalen Kontakts während Denervation die Expression des peripheren Myelinproteins P0 in nicht-myelinisierenden Schwann-Zellen induzierte (Lee et al. 1997).

Die Daten zur möglichen Regulation des OEC-Phänotyps durch olfaktorische Neurone beziehen sich bislang auf die Ex-



pression des Neurotrophinrezeptors p75^{NTR}. Die selektive Ausschaltung olfaktorischer Neurone *in vivo* induziert eine massive Heraufregulierung von p75^{NTR} in OECs (Turner und Perez-Polo 1993). Diese Beobachtung korreliert gut mit Zellkulturbefunden, nach denen olfaktorische, nicht aber kortikale Neurone die p75^{NTR}-Expression in OECs kontaktabhängig inhibieren (Chung et al. 2004; Ramón-Cueto et al. 1993). Kürzlich konnten wir zeigen, dass mit axonalen Fragmenten assoziierte OECs in primären Frischdissoziaten p75^{NTR} negativ sind, und die Expression in der Kultur in Abwesenheit von Neuronen heraufregulieren (Wewetzer et al. 2005). Ein zweiter OEC-Phänotyp war nicht mit axonalen Fragmenten assoziiert und exprimierte p75^{NTR} bereits *in situ* (Wewetzer et al. 2005).

Zusammengenommen sprechen diese Befunde dafür, dass olfaktorische Neurone die Expression von p75^{NTR} kontaktabhängig *in vitro* und *in vivo* inhibieren und damit zur Etablierung eines spezifischen OEC-Phänotyps beitragen. Mit dieser aus Zellkultur- und *in vivo* Läsionsstudien abgeleitete These ist auch die Expression von p75^{NTR} in OECs und Schwann-Zellen während der normalen Entwicklung vereinbar. Denn während neonatale Schwann-Zellen *in situ* unter normalen Bedingungen ausnahmslos p75^{NTR} exprimieren (Jessen und Mirsky 2004), und diese Expression in nicht-myelinisierenden Schwann-Zellen bis in das adulte Stadium persistiert (Jessen und Mirsky 2004), exprimiert der überwiegende Teil der neonatalen und adulten OECs kein p75^{NTR} (Franceschini und Barnett 1996; Gong et al. 1994; Wewetzer et al. 2005).

Die Beobachtung, dass sich OECs und Schwann-Zellen morphologisch und molekular *in situ* nicht aber *in vitro* unterscheiden (Wewetzer et al. 2005), deutet daraufhin, dass bislang nicht charakterisierte Signale *in vivo* den spezifischen OEC-Phänotyp determinieren. Die These, dass olfaktorische Neurone hierbei eine herausragende Rolle spielen, wird durch die diskutierten Befunde zur p75^{NTR}-Expression in OECs gestützt. Hypothese III überträgt damit das für Schwann-Zellen bestens etablierte Konzept der Neuron-Glia-Interaktion erstmalig auf das olfaktorische System (Wewetzer und Brandes 2006).

Schlussbemerkungen

Die Diskussion der drei vorgestellten Hypothesen macht deutlich, wie groß die Kontroverse um die Identität und regenerative Kapazität von OECs zurzeit noch ist. Der

deutliche Unterschied zwischen Hypothesen I/II und III lässt bereits heute erahnen, dass nur eines der beiden Konzepte sich zukünftig als zutreffend erweisen kann.

Die Vorstellung, dass in das verletzte Nervensystem implantierte OECs ein einzigartiges intrinsisches regeneratives Potenzial besitzen und effektiver als Schwann-Zellen Regeneration fördern (Hypothese I, II) gründet auf theoretischen Annahmen und muss durch die *in vivo* Applikation von vergleichbar isolierten OEC- und Schwann-Zell-Präparationen gleicher Reinheit überprüft werden. Voraussetzung hierfür ist jedoch die Identifizierung von zelltypspezifischen Markern, die es ermöglichen, die zelluläre Zusammensetzung der transplantierten Zellpräparationen zu kontrollieren.

Die Vorstellung, dass olfaktorische Neurone die molekulare Identität von OECs determinieren und ihre Abwesenheit einen Schwann-Zell-ähnlichen Phänotyp induziert (Hypothese III) gründet sich zurzeit auf die Expression von p75^{NTR} in OECs. Weitere experimentelle Studien müssen auf der einen Seite das Ziel haben, zusätzlich zu p75^{NTR} weitere Moleküle zu identifizieren, deren Expression durch olfaktorische Neurone reguliert wird. Zum anderen muss in Kokulturrexperimenten und durch Transplantation geklärt werden, inwiefern olfaktorische Neurone auch in Schwann-Zellen die Expression von p75^{NTR} und anderen Molekülen zu inhibieren und damit einen OEC-spezifischen Phänotyp zu induzieren in der Lage sind.

Angesichts der heterogenen Datenlage und der Kontroverse um die molekulare Identität und regenerative Kapazität von OECs muss die klinische Erprobung der Zellen als verfrüht erscheinen. Befürworter von Hypothese I/II müssten einräumen, dass aufgrund des Mangels an zelltypspezifischen Markern in Riechschleimhautbioptaten nicht zwischen OEC und Schwann-Zelle unterschieden werden kann und damit tatsächlich keine Kontrolle über die zelluläre Zusammensetzung des Transplantats besteht. Des Weiteren ist nicht geklärt, inwieweit der mit der Isolierung und Transplantation von OECs verbundene Verlust der Neuron-Glia-Interaktion im olfaktorischen System zu einem Verlust spezifischer OEC Eigenschaften führt (Hypothese III). Dies könnte bedeuten, dass durch Transplantation aus OECs Schwann-Zellen hergestellt würden.

Literatur

Barnett, S.C. (2004): Olfactory ensheathing cells: unique cell types? *J. Neurotrauma* 21:

375-382.

Boyd, J.G., Doucette, R. und Kawaja, M.D. (2005): Defining the role of olfactory ensheathing cells in facilitating axon remyelination following damage to the spinal cord. *FASEB J.* 19: 694-703.

Harvey, A.R. und Plant, G.W. (2006): Olfactory ensheathing glia and spinal cord injury: basic mechanisms to transplantation. *Future Neurol.* 1: 453-463.

Raisman, G. (2001): Olfactory ensheathing cells: another miracle cure for spinal cord injury? *Nat. Rev. Neurosci.* 2: 369-375.

Wewetzer, K. und Brandes, G. (2006): Axonal signalling and the making of olfactory ensheathing cells: a hypothesis. *Neuron Glia Biol.* (im Druck).

Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Abkürzungen

OEC(s): olfaktorische Hüllzellen, olfactory ensheathing cell(s)

Danksagung

Unsere Studien wurden durch die Hochschulinterne Leistungsförderung (HiLFII) der Medizinischen Hochschule Hannover gefördert.

Kurzbiographien

Konstantin Wewetzer: geboren 1962; studierte Humanbiologie in Marburg. Promotion 1992 am Institut für Anatomie und Zellbiologie. 1992-1994 Postdoc bei der F. Hoffmann-La Roche AG (Basel). 1995-98 Anatomisches Institut Freiburg. Seit 1998 Medizinische Hochschule Hannover. 2004 Forschungs Kooperation mit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover. 2006 außerplanmäßige Professur für Anatomie.

Gudrun Brandes: geboren 1958, studierte Humanmedizin in Hannover. Promotion 1996 am Institut für Zellbiologie und Elektronenmikroskopie. Seit 1996 Forschungstätigkeit im Institut Zellbiologie des Zentrums Anatomie (Medizinische Hochschule Hannover).

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Konstantin Wewetzer
 Stiftung Tierärztliche Hochschule
 Hannover / Institut für Pathologie
 Bünteweg 17
 30559 Hannover
 Tel: +49 (0) 511 953 8670
 Fax: +49 (0) 511 953 8675
 e-mail: konstantin.wewetzer@tiho-han-