

Axonaler Transport von der Nervenendigung zum Nervenzellkörper : ein Weg für trophische Signale und Neurotoxine

Autor(en): **Schwab, Martin E.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **36 (1980)**

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-308225>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Abteilung Neurochemie, Max Planck Institut für Psychiatrie, Martinsried bei München

AXONALER TRANSPORT VON DER NERVENENDIGUNG ZUM
NERVENZELLKÖRPER: EIN WEG FÜR TROPHISCHE SIGNALE UND
NEUROTOXINE*

MARTINE SCHWAB

Zusammenfassung

Als Zellen mit sehr langen Fortsätzen (Axon, Dendriten) besitzen Nervenzellen ein sehr leistungsfähiges anterogrades (zellulifugales) und retrogrades (zellulipetales) Transportsystem. In retrograder Richtung wird zusätzlich zu endogenen Zellbestandteilen exogenes Material, wie z.B. der trophische Faktor NGF, transportiert. Unsere Studien haben gezeigt, dass Moleküle, die mit hoher Affinität an Rezeptoren in der Nerven-Endigungsmembran binden (z.B. NGF, Tetanus und Cholera Toxin, Lektine) selektiv aufgenommen und mit einer Geschwindigkeit von 100-200 mm/Tag retrograd zum Zellkörper transportiert werden. Dort werden die meisten dieser Moleküle lysosomal verdaut; sie können aber wie z.B. NGF dennoch spezifische Signal-Funktionen in der Zelle ausüben. Tetanus Toxin entgeht den lysosomalen Abbau weitgehend und wird retrograd trans-synaptisch an Neuronen höherer Ordnung weitergegeben. Wir vermuten, dass dieser retrograde und trans-synaptische Transport ein physiologisch wichtiger Weg für "trophische" Signal-Moleküle darstellt, die Informationen von den Effektor-Zellen zu den innervierenden Neuronen übertragen. Der selbe Weg kann von Neurotoxinen (Tetanus Toxin) und neurotrophen Viren benützt werden, um in das Nervensystem einzudringen.

* Die hier dargestellten eigenen Resultate entstanden in enger Zusammenarbeit mit Prof. Hans Thoenen, Dr. Klaus Stoeckel und Dr. Marc Dumas am Biozentrum der Universität Basel (Abt. Pharmakologie) von 1974 bis 1978. Unsere Arbeit wurde unterstützt durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Gesuch Nr. 3.432.74) und die Sandoz Stiftung zur Förderung der medizinisch-biologischen Forschung.

Summary

Nerve cells with their very long axons and dendrites have an effective system of anterograde and retrograde transport. In the retrograde direction there is, in addition to endogeneous cell constituents, a substantial transport of exogenous material like e.g. trophic factors like NGF. We have found that molecules which bind with high affinity to receptors in the nerve terminal surface membranes (e.g. NGF, tetanus and cholera toxin, lectins) are selectively internalized and transported retrogradely to the cell body. Although most of them are incorporated into lysosomes in the cell body, they can nevertheless exert specific signal functions in the cell (NGF). Tetanus toxin, however, is released by the dendrites and transferred trans-synaptically to higher order neurons. We suggest that this retrograde and trans-synaptic transport represents an important pathway for "trophic" signal molecules, which convey information from the target cells to the innervating neurons. The same pathways can be used by neurotoxins (tetanus toxin) and neurotropic viruses for entering the nervous system.

1. Die besondere Morphologie der Nervenzellen: Die Notwendigkeit von axonalem Transport

Als Zellen sind Neurone morphologisch gekennzeichnet durch ihre sehr langen Fortsätze (Dendriten und besonders Axone), deren Oberfläche und Volumen mehrere Größenordnungen über denen des Zellkörpers liegen kann (z.B. spinales Motoneuron: Zellkörper Durchmesser 30 - 50 μ , Axon Länge bis $10^6 \mu$!). Da die wesentlichen Synthese-Leistungen für Proteine und Lipide ausschliesslich im Zellkörper und den proximalen Dendriten stattfinden, ist ein leistungsfähiges Transportsystem vom Zellkörper ins Axon und zu den Nervenendigungen eine absolute Notwendigkeit. Tatsächlich wurde Mitte der 60-er Jahre ein solcher antero- (oder ortho-) grader Transport gefunden (DROZ and LEBLOND, 1963), der verschiedene Arten von Proteinen, Glykoproteinen und Lipiden mit verschiedenen Geschwindigkeiten transportiert (WILLARD et al., 1974, for rev. CUENOD, 1974, SCHWARTZ, 1979). Die maximale Geschwindigkeit bei Vögeln und Säugern beträgt 410 mm/Tag (17 mm/Std.) und transportiert vor allem Membranmaterial zu den Nervenendigungen (CUENOD, 1974). Lösliche zytoplasmatische Proteine werden dagegen im allgemeinen langsam transportiert (1-5 mm/Tag). Wie diese Selektivität der Transport-Geschwindigkeit zustande kommt, ist noch unbekannt; ebenso die Natur des Transport-Mechanismus selbst.

Nachdem sich also gezeigt hatte, dass mit grosser Geschwindigkeit laufend grosse Mengen von besonders Membranmaterial ins Axon und dessen terminale Verzweigung transportiert werden und dort einem z.T. sehr raschen "Turnover" unterliegen (WAGNER et al., 1979),

stellte sich die Frage, was weiter mit diesem Material geschieht. Freisetzung in den extrazellulären Raum oder lokaler Abbau kommen in beschränkter Masse vor. Es zeigte sich aber, dass ein Rücktransport zum Zellkörper (retrograd) nicht nur für die Zelle ökonomisch erscheint, sondern tatsächlich der am häufigsten verwendete Weg darstellt. Synthese im Zellkörper → anterograde Transport ins Axon und zur Nervenendigung → lokaler Umsatz → retrograde Transport in den Zellkörper → Abbau oder Wiederverwendung scheint so der normale Weg für eine Vielzahl von axonalen Komponenten zu sein.

Da das oft sehr lange Axon und die terminale Verzweigung mit den Nervenendigungen weit vom Zellkörper entfernt sind, und im Fall von peripheren Neuronen sogar ausserhalb der Blut-Hirn-Schranke in einem völlig andern Milieu sich befinden, stellte sich die Frage, ob der retrograde Transport auch exogene Moleküle transportieren kann, und damit beiträgt zur Kommunikation und Signal-Übertragung zwischen den Nervenendigungen und deren Umgebung mit dem Zellkörper.

2. Trophische Signale

Eine grosse Zahl von embryologischen und pathologischen Befunden weist auf die Existenz von Signalen hin, die unabhängig von den Transmitter-kodierten Signalen zwischen Nervenzellen und Erfolgszellen (in beiden Richtungen!) ausgetauscht werden. Solche sog. "trophischen Faktoren" oder Signale beeinflussen grundlegend das Überleben, die Differenzierung und die Funktion von Nervenzellen (ref. VARON and BUNGE, 1978). Wegen ihrem Vorkommen in äusserst geringen Mengen und ihrer vermutlich vorwiegend makromolekularen Natur hat sich die Identifizierung und Isolierung solcher Faktoren als sehr schwierig erwiesen. Bis heute ist nur ein solcher Faktor vollständig isoliert und in seinem Wirkungs-Mechanismus z.T. untersucht, der sog. "Nerve Growth Factor" (NGF, Molekular-Gewicht 26 000). NGF wirkt ausschliesslich auf sympathische und sensorische Ganglienzellen und das Nebennieren-Mark (LEVI-MONTALCINI and ANGELETTI, 1968; LEVI-MONTALCINI and CALISSANO, 1979). In embryonalen Ganglienzellen fördert NGF das Überleben der Zellen, stimuliert ihren generellen Metabolismus und bewirkt das Auswachsen von Nervenfasern. In adrenergen Neuronen steigert NGF zusätzlich die Synthese von Tyrosin-Hydroxylase (TH) und Dopamin-β-Hydroxylase (DBH), den Schlüsselenzymen für die Noradrenalin-Synthese (THOENEN et al., 1971, 1979). Ferner bestehen Hinweise für einen chemotaktischen Einfluss von NGF auf auswachsende Nervenfasern (LETOURNEAU, 1978; LEVI-MONTALCINI and CALISSANO, 1979). Die Selektivität der Wirkung von NGF auf sympathische und sensorische Ganglienzellen trifft sich mit dem Vorhandensein von Hochaffinitäts-Membranre-

zeptoren für NGF auf diesen zwei Zelltypen (BANERJEE et al., 1974; SUTTER et al., 1979). Alle diese Effekte von NGF passen in das postulierte Schema eines retrograden, d.h. eines vom Endorgan produzierten und auf die innervierenden Nervenzellen wirkenden trophischen Faktors (THOENEN et al., 1979). (Allerdings ist der direkte Nachweis der NGF Synthese durch Endorgane aus technischen Gründen bis heute noch nicht gelungen (SUDA et al., 1978)). - Da NGF die meisten seiner Wirkungen auf den Zellkörper zu haben scheint, wie erreicht er dann vom Endorgan, als dem postulierten Ort der Freisetzung, seinen Wirkungs-ort?

3. Retrograder Transport von exogenen Molekülen; selektiver Transport von NGF

Um 1970 wurde bekannt, dass ein Albumin-Evans Blau Komplex und Meerrettich Peroxidase (horseradish peroxidase, HRP, Molekulargewicht 44 000) von Nervenendigungen aufgenommen und retrograd zum Zellkörper transportiert werden können (KRISTENSSON, 1970; KRISTENSSON and OLSSON, 1971). In der Folge ist der retrograde Transport von HRP zu einer der z.Z. wichtigsten neuroanatomischen Methoden geworden (LAVAIL et al., 1973). Allerdings ist die Konzentration von HRP, die injiziert werden muss, stets ausserordentlich hoch (10-30 % Lösungen).

Im Zug der Abklärung des Wirkungs-Mechanismus von NGF injizierten HENDRY et al., (1974) ¹²⁵I-markierten NGF in die Iris der Ratte, ein Endorgan der sympathischen Ganglienzellen des obem Zervikal-Ganglions. Tatsächlich wurde NGF von den Nervenendigungen dieser adrenergen Nervenzellen aufgenommen und retrograd zum Zellkörper transportiert. Die Aufnahme und der Transport von NGF erfolgten in einer wesentlich effizienteren Weise als die Aufnahme von HRP oder Albumin (HENDRY et al., 1974b; STOECKEL et al., 1974). Diese hoch effiziente Aufnahme und retrograder Transport von NGF waren allerdings beschränkt auf periphere sympathische und sensorische Ganglienzellen, wiederum koinzidierend mit dem Vorhandensein von NGF-spezifischen Membran-Rezeptoren (STOECKEL et al., 1975; SCHWAB et al., 1979a).

NGF erreichte den Zellkörper durch das Axon als intaktes Molekül und induzierte im Zellkörper die typischen Effekte: Anstieg der Enzyme TH und DBH und Stimulation der generellen Protein-Synthese (PARAVICINI et al., 1975; HENDRY, 1977).

Tabelle 1.

	Molekular- Gewicht	Bindungs-Spezifität
Tetanus Toxin	150 000	Ganglioside GD _{1b} und GT ₁
Tetanus Toxin Fragment BII _b (Bizzini et al., 1977)	47 000	Ganglioside GD _{1b} und GT ₁
Cholera Toxin	84 000	Gangliosid GM ₁
Cholera Toxinoid	55 000	Gangliosid GM ₁
Lektine:		
Weizenkeim Agglutinin (Wheat germ agglutinin, WGA)	35 000	N-acetyl glukosamin Reste
Ricin (aus Ricinus communis)	62 000	Galaktose-, N-acetyl galaktosamin- Reste
Phytohaemagglutinin	140 000	N-acetyl galaktosamin-Reste
Concanavalin A	112 000	Mannose-, Glukose-Reste
Antikörper gegen Dopamin β-Hydroxylase	150 000	Dopamin-β-hydroxylase

4. Selektive Aufnahme und retrograder Transport von Tetanus Toxin, Cholera Toxin und Lektinen. - Neue neuroanatomische "Tracer"

Die grossen quantitativen Unterschiede in Aufnahme und retrogradem Transport von NGF gegenüber HRP und die Beschränkung dieses retrograden Transports von NGF auf sympathische und sensorische Ganglien führten zu unserer Arbeitshypothese, dass die selektive Aufnahme von NGF ausgelöst wird durch die Bindung an die spezifischen Membran-Rezeptoren. Um die Hypothese zu testen, injizierten wir eine Reihe von ¹²⁵I-markierten Proteinen, von denen bekannt war, dass sie sich selektiv an bestimmte Zuckergruppen von Membran-Glykoproteinen oder Glykolipiden binden (Tabelle 1). Tatsächlich wurde für alle diese Makromoleküle ein sehr effizienter retrograder Transport gefunden (DUMAS et al., 1979a; FILLENZ et al., 1976; STOECKEL et al., 1975, 1977). Im Fall von Tetanus Toxin gelang die direkte elektronen-mikroskopische Darstellung der selektiven Bindung an Nervenzell-Membranen in der Iris und der nachfolgenden Aufnahme in die Nervenendigungen (SCHWAB and THOENEN, 1978). Das aufgenommene Toxin konnte im Axon retrograd zum Zellkörper verfolgt werden. Biochemisch konnte gezeigt werden, dass für alle diese Toxine und Lektine wie auch für NGF nur eine beschränkte Zahl von Bindungs- und Aufnahme-Stellen pro Nervenendigung zur Verfügung steht (DUMAS et al., 1979a).

Entsprechend dem generellen Vorkommen von Rezeptoren für Toxine und Lektine auf allen Nervenzell-Membranen war der retrograde Transport dieser Moleküle bei allen untersuchten peripheren und zentralen Neuronen feststellbar (SCHWAB et al., 1977, 1978; STOECKEL

et al., 1975). Die Transport-Geschwindigkeit betrug 5-10 mm/Std. in allen Fasertypen. Diese spezifische Bindung und Aufnahme von Lektinen und Toxinen liess vermuten, dass diese Moleküle bessere neuroanatomische "Tracer" zur Untersuchung von Faserverbindungen abgeben könnten als HRP. Experimente im peripheren und zentralen Nervensystem zeigten uns, dass vor allem Tetanus Toxin und "Wheat Germ Agglutinin" (WGA), ein Lektin, sehr empfindliche und zuverlässige "Tracer" darstellen, die gegenüber der HRP wesentliche Vorteile aufweisen (SCHWAB et al., 1977, 1978).

Der Mechanismus einer Rezeptor-medierten selektiven Aufnahme von Proteinen oder Peptid-Hormonen wurde innerhalb der letzten Jahre für verschiedene Zelltypen und Moleküle beschrieben (Antikörper gegen Membranproteine, Lektine, Diphtherie Toxin, Cholera Toxin, "Epidermal Growth Factor", "low density lipoprotein", Insulin, Gonadotrophin u.a.) (BENNETT et al., 1976; BROWN and GOLDSTEIN, 1979; CARPENTER and COHEN, 1976; CARPENTIER et al., 1979; GOLDFINE et al., 1977; NICOLSON, 1974; NICOLSON et al., 1978; RAFF, 1975). Es ist daher wieder die besondere Struktur der Nervenzelle - das lange Axon - das den retrograden Transport als Mechanismus der Informations-Uebertragung von der Nervenendigung zum Zellkörper nötig macht.

5. Lokalisation des transportierten Materials im Axon: Das Transport-Vehikel

Die elektronen-mikroskopische Lokalisation von Tracer-gekoppeltem NGF, Tetanus Toxin oder WGA in Axonen zeigte eindeutig, dass das transportierte Material stets in Vesikeln oder Membran-Zisternen, aber nie frei im Zytoplasma transportiert wird (Fig. 1) (SCHWAB, 1977; SCHWAB and THOENEN, 1977; SCHWAB et al., 1979b). Es ist wahrscheinlich, dass die Membran dieser Vesikel und Zisternen von der Zell-Membran her stammt und zusätzlich zu NGF oder dem Toxin oder Lektin deren Membran-Rezeptoren enthält. Sehr ähnlich wie beim schnellen anterograden Transport scheinen solche intrazellulären Membranen als Transport-Vehikel zu funktionieren (CUENOD, 1974, DROZ et al., 1975). Die z.Z. plausibelste Hypothese für den Transport-Mechanismus nimmt deshalb an, dass im Axon stationäre kontraktile Elemente (eventuell Aktin) sich kurzfristig mit einem solchen Transport-Vehikel verbinden und es ein kurzes Stück vorwärts (anterograd) oder rückwärts (retrograd) ziehen. Diesem Modell entsprechen kinematographische Studien, die eine sprungweise Fortbewegung von Partikeln im Axon gezeigt haben (FORMAN et al., 1977). Wie die strenge Trennung von retrograder und anterograder Transport-Richtung zustande kommt, ist allerdings noch völlig unklar.

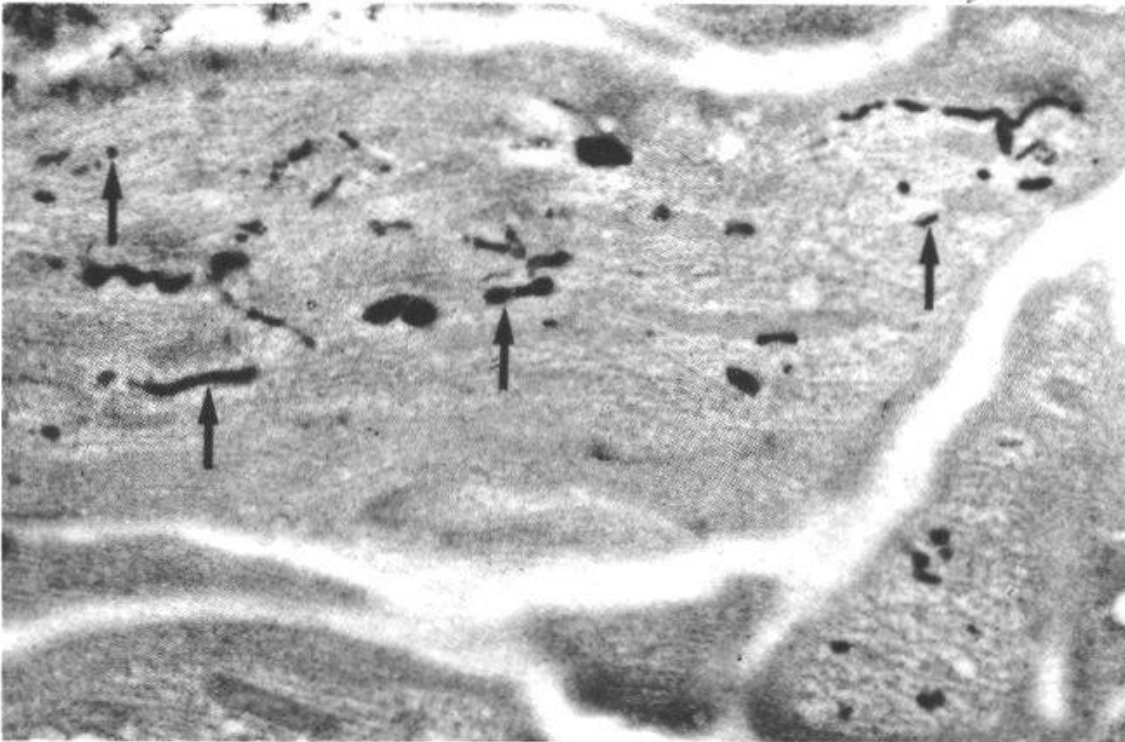


Fig. 1. Elektronen-mikroskopische Lokalisation von Weizenkeim Agglutinin (WGA) während dem retrograden Transport in postganglionären Axonen des oberen Zervikal-Ganglions der Ratte. Schwarzes Reaktionsprodukt (HRP kovalent gekoppelt an WGA) befindet sich in Membran-Zisternen und Vesikeln (Pfeile). Vergrößerung 36'000x.

6. Lokalisation von retrograd transportierten Proteinen im Zellkörper: Lysosomen als Endstation

Nachdem die Transport-Vehikel mit dem markierten NGF, Toxin oder Lektin den Zellkörper erreicht haben, fusionieren sie mit andern intrazellulären Membranen, vor allem im sog. GERL-Feld (Golgi - endoplasmatisches Retikulum - Lysosomen Feld) (SCHWAB, 1977; SCHWAB et al., 1979b). Diesen elektronen-mikroskopischen Resultaten entsprechen die biochemischen Befunde, die zeigten, dass das transportierte Material intakt im Zellkörper ankommt, anschliessend aber lysosomal abgebaut wird (DUMAS et al., 1979a; STOECKEL et al., 1976) (Fig. 2).

Da NGF weder in den Zellkern noch direkt zu den Ribosomen gelangt (SCHWAB 1977), wo die Regulationen der Proteinsynthese stattfinden sollten (HENDRY, 1977; PARAVICINI et al., 1975), nehmen wir an, dass ein oder mehrere intrazelluläre Signale durch den retrograd transportierten NGF ausgelöst werden ("second messengers"), die zu den spezifischen biologischen Effekten führen. Weder der genaue Ort (Organelle) noch die Natur dieser Signale konnten bis jetzt bestimmt werden.

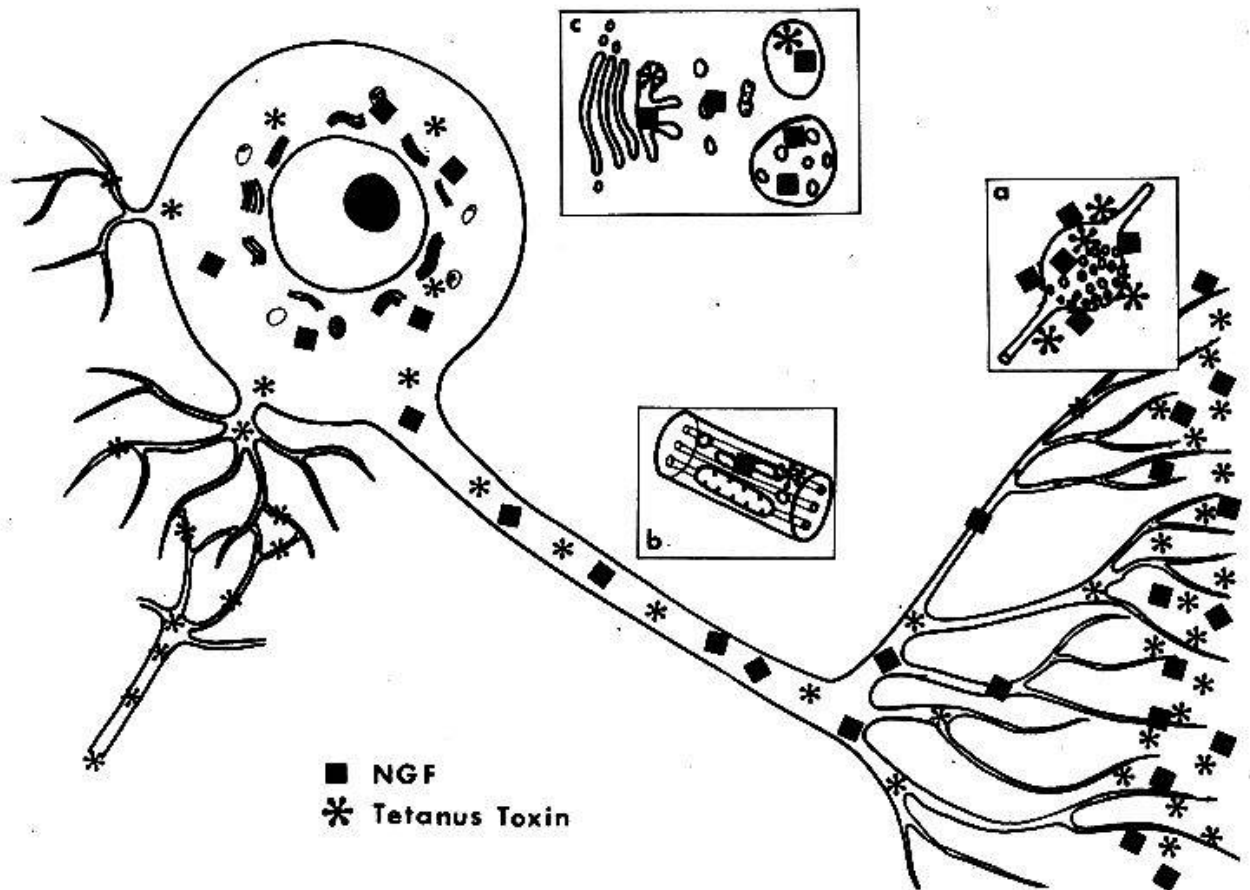


Fig. 2. Schematische Darstellung von selektiver Aufnahme und retrogradem axonalem Transport von NGF, Lektinen und Toxinen, und anschliessendem transsynaptischem Transport von Tetanus Toxin. Alle diese Moleküle binden mit hoher Affinität an Rezeptoren in der Membran von Nerven-Endigungen (a) und werden dadurch bevorzugt pinozytiert und in Membranzisternen retrograd zum Zellkörper transportiert (b). Dort werden NGF, die Lektine und Cholera Toxin in Lysosomen inkorporiert (c). Tetanus Toxin dagegen wird an den Dendriten wieder in den extra-zellulären Raum freigesetzt und von den Nerven-Endigungen von Neuronen höherer Ordnung aufgenommen und wiederum retrograd transportiert.

Mit Ausnahme von Tetanus Toxin wird keines der transportierten Moleküle von der Zelle wieder freigesetzt (SCHWAB et al., 1979b; SCHWAB and THOENEN, 1977). Lysosomaler Abbau scheint also das Schicksal der meisten retrograd transportierten exogenen Moleküle zu sein, was allerdings, wie der Fall von NGF zeigt, eine physiologische Wirkung auf die Zelle nicht ausschliesst.

Trotz der sehr viel weniger spezifischen Aufnahme von HRP an der Nervenendigung wird auch dieses Protein in morphologisch ähnlichen Transport-Vehikeln transportiert und wird im Zellkörper ebenfalls in die Lysosomen aufgenommen (NAUTA et al., 1975).

7. Tetanus Toxin: Selektive Freisetzung nach retrogradem Transport durch den Zellkörper und die Dendriten und transsynaptischer Transport

In völligem Gegensatz zu NGF, den Lektinen und Cholera Toxin wird nicht alles Tetanus Toxin durch die Lysosomen abgebaut. Die elektronen-mikroskopische Lokalisation im Rückenmark und im sympathischen Ganglion zeigten, dass ein gewisser Anteil des transportierten Toxins durch die Dendriten vorwiegend an postsynaptischen Stellen in den extrazellulären Raum freigesetzt wird (SCHWAB and THOENEN, 1976, 1977; SCHWAB et al., 1979b). Sofort bindet sich das Toxin wieder an präsynaptische Membranen von Nervenendigungen, die diese Zelle innervieren, und wird in diese Endigungen aufgenommen. Dieses Phänomen, das einmalig ist bis jetzt für Tetanus Toxin, wurde als retrograd transsynaptischer Transport bezeichnet (SCHWAB and THOENEN, 1976; SCHWAB et al., 1979b). Anschliessend an diesen transsynaptischen Transport kann wiederum ein retrograd axonaler Transport erfolgen. Das Toxin bleibt während dieser ganzen Wanderung intakt (Molekular-Gewicht 150 000) (DUMAS et al., 1979b) (Fig. 2).

8. Physiologische und pathophysiologische Bedeutungen von retrogradem und transsynaptischem Transport; das Konzept von neuro-tropen "magic bullets"

Spezifische, durch Membran-Rezeptoren vermittelte Aufnahme im Endorgan und anschliessender retrograder Transport zum Nervenzellkörper scheint ein wesentlicher Schritt zu sein im Wirkungs-Mechanismus von NGF, dem einzigen heute gut bekannt trophischen Faktor (THOENEN et al., 1979). Da eine Vielzahl solcher retrograd wirkender trophischer Signale existieren müssen, an deren Charakterisierung z. Z. vehement gearbeitet wird, dürfte sich der retrograde Transport solcher Signal-Moleküle als ein sehr genereller Mechanismus des Informations-Austausches im Nervensystem erweisen. Während viele solcher Signale (wie z.B. NGF) "nach Gebrauch" im selben Neuron abgebaut werden, muss es Moleküle geben, die an Neurone höherer Ordnung retrograd transsynaptisch weitergegeben werden. Tetanus Toxin benutzt einen solchen Weg, der physiologisch kaum für dieses letale Molekül vorhanden ist. Solche Signale, die eventuell ganze Ketten von Neuronen retrograd durchwandern können, könnten für ein wohlbekanntes neurologisches Phänomen verantwortlich sein: Die retrograde transneurone Degeneration. Gerade im obem Zervikal-Ganglion und im Rückenmark, wo wir die transsynaptische Migration von Tetanus Toxin beobachtet haben, sind retrograde transsynaptische Effekte in der Form von Synapsen-Retraktionen, die den völligen Unterbruch der Impulsübermittlung zur Folge haben, wenige Tage nach einer Läsion des Axons der postsynap-

tischen Zelle nachgewiesen worden (MATTHEWS and NELSON, 1975; MENDELL, 1976; PURVES, 1975).

Im Fall von Tetanus Toxin selbst erklärt der retrograde axonale und transsynaptische Transport endlich, wie das Toxin an den Ort seiner Wirkung, die inhibitorischen Synapsen im Rückenmark, gelangt. Elektro-physiologische und biochemische Resultate haben schon vor längerer Zeit gezeigt, dass die Wirkung des Toxins primär in einer präsynaptischen Blockade der Freisetzung der hemmenden Transmitter Glyzin und GABA besteht, was dann zu einer Hyperaktivität der Motoneuronen führt (CURTIS and DE GROAT, 1968; CURTIS et al., 1973; OSBORN and BRADFORD, 1973).

Neben den hier untersuchten Substanzen gibt es eine weitere Gruppe von makromolekularen Komplexen, die von Nerven-Endigungen selektiv aufgenommen und retrograd zum Zellkörper transportiert werden: Die neurotrophen Viren für Herpes, Rabies, Pseudorabies und Poliomyelitis (BLINTZINGER and ANZIL, 1974; BODIAN and HOWE, 1941; DOLIVO et al., 1978; KRISTENSSON et al., 1974; MURPHY et al., 1973; PRICE et al., 1975). Die Viren können entweder nach Vermehrung im Zellkörper ähnlich wie Tetanus Toxin Nervenzellen höherer Ordnung erreichen, oder, im Fall von Herpes, mit dem anterograden Transport wieder ins Endigungsgebiet transportiert werden (WALZ et al., 1974).

In Zusammenarbeit mit Dr. B. Bizzini am Institut Pasteur in Paris konnten wir zeigen, dass ein nicht-toxisches Fragment des Tetanus Toxin Moleküls ebenfalls retrograd und transsynaptisch transportiert wird (BIZZINI et al., 1975; DUMAS et al., 1979a; SCHWAB et al., 1979b). Da die ausserordentliche Toxizität von Tetanus Toxin allein auf seiner hoch selektiven Bindung an Nervenzell-Membranen beruht, wurde vorgeschlagen, dieses Toxin-Fragment (Molekulargewicht 47 000) zur Konstruktion eines neurotrophen "drug-carriers" z.B. für antivirale Agentien zu benutzen (BIZZINI et al., 1977). Das Pharmakon würde dadurch als "magic bullet" selektiv in Nervenzellen eingeschleust, auf dem gleichen Weg der z.B. von einem Virus benutzt wurde. Lysosomen resistente Pharmaka würden nach dem Abbau des Carriers vom Lysosom ins Zytoplasma freigesetzt. In verschiedenen Laboratorien wird unterdessen dieser vielversprechende aber sehr schwierige Zugang zu selektiv wirkenden Pharmaka einer intensiven Prüfung auf eine mögliche therapeutische Anwendung hin unterzogen.

Banerjee S.P., Cuatrecasas P. and Snyder S.H.: Solubilization of nerve growth factor receptors of rabbit superior cervical ganglia. *J. biol. Chem.* **251**, 5680-5685 (1976).

Bennett V., Craig S., Hollenberg M.D., O'Keefe E., Sahyoun N. and Cuatrecasas P.: Structure and function of cholera toxin and hormone receptors. *J. supramolec. Struct.* **4**, 99-120 (1976).

- Bizzini B., Stoeckel K. and Schwab M.: An antigenic polypeptide fragment isolated from tetanus toxin: chemical characterization, binding to gangliosides, and retrograde axonal transport in various neuron systems. *J. Neurochem.* 28, 529-542 (1977).
- Blinzinger K. and Anzil A.P.: Neural route of infection in viral diseases of the central nervous system. *Lancet* 7, 1374-1377 (1974).
- Bodian D. and Howe H.A.: The role of progression of poliomyelitis virus in nerves. *Bull Johns Hopk. Hosp.* 69, 79-85 (1941).
- Brown M.S. and Goldstein J.L.: Receptor-mediated endocytosis: Insights from the lipoprotein receptor system. *Proc. natl. Acad. Sci. (Wash.)* 76, 3330-3337 (1979).
- Carpenter G. and Cohen S.: ¹²⁵I-labeled human epidermal growth factor. *J. Cell Biol.* 71, 159-171 (1976).
- Carpentier J.L., Gorden P., Barazzone P., Freychet P., Le Cam A. and Orci L.: Intracellular localization of ¹²⁵I-labeled insulin in hepatocytes from intact rat liver. *Proc. natl. Acad. Sci. (Wash.)* 76, 2803-2807 (1979).
- Cuénod M.: Rôle du transport axoplasmique dans la structure et la fonction synaptiques. *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss.* 30, fasc. 1-3, 5-20 (1974).
- Curtis D.R. and de Groat W.C.: Tetanus toxin and spinal inhibition. *Brain Res.*, 10, 208-212 (1968).
- Curtis D.R., Felix D., Game C.J.A. and McCulloch R.M.: Tetanus toxin and the synaptic release of GABA. *Brain Res.* 51, 358-362 (1973).
- Droz B. and Leblond C.P.: Axonal migration of proteins in the central nervous system and peripheral nerves as shown by radioautography. *J. comp. Neurol.* 121, 325-346 (1963).
- Droz B., Rambourg A. and Koenig H.L.: The smooth endoplasmic reticulum: structure and role in the renewal of axonal membrane and synaptic vesicles by fast axonal transport. *Brain Res.* 93, 1-13 (1975).
- Dolivo M., Beretta E., Bonifas V. and Foroglou C.: Ultrastructure and function in sympathetic ganglia isolated from rats infected with pseudorabies virus. *Brain Res.* 140, 111-123 (1978).
- Dumas M., Schwab M.E. and Thoenen H.: Retrograde axonal transport of specific macromolecules as a tool for characterizing nerve terminal membranes. *J. Neurobiol.* 10, 179-197 (1979a).
- Dumas M., Schwab M.E., Baumann R. and Thoenen H.: Retrograde transport of tetanus toxin through a chain of two neurons. *Brain Res.* 165, 354-357 (1979b).
- Fillenz M., Gagnon C., Stoeckel K. and Thoenen H.: Selektive uptake and retrograde axonal transport of dopamine- β -hydroxylase antibodies in peripheral adrenergic neurons. *Brain Res.* 114, 293-303 (1976).
- Forman D.S., Padjen A.L. and Siggins G.R.: Axonal transport of organelles visualized by light microscopy: Cinemicrographic and computer analysis. *Brain Res.* 136, 197-213 (1977).
- Goldfine I.D., Smith G.J., Wong K.Y. and Jones A.L.: Cellular uptake and nuclear binding of insulin in human cultured lymphocytes: evidence for potential intracellular sites of insulin action. *Proc. natl. Acad. Sci. (Wash.)* 74, 1368-1372 (1977).
- Hendry I.A.: The effect of retrograde axonal transport of nerve growth factor on the morphology of adrenergic neurons. *Brain Res.* 134, 213-223 (1977).
- Hendry I.A., Stoeckel K., Thoenen H. and Iversen L.L.: The retrograde axonal transport of nerve growth factor. *Brain Res.* 68, 103-121 (1974a).
- Hendry I.A., Stach R. and Herrup K.: Characteristics of the retrograde axonal transport system for nerve growth factor in the sympathetic nervous system. *Brain Res.* 82, 117-128 (1974b).
- Kristensson K.: Transport of fluorescent protein tracer in peripheral nerves. *Acta neuropath. (Berlin)* 16, 54-63 (1970).
- Kristensson K. and Olsson Y.: Retrograde axonal transport of protein. *Brain Res.* 29, 363-365 (1971).

- Kristensson K., Ghetti B. and Wisniewski H.M.: Study of the propagation of Herpes simplex virus (type 2) into the brain after intraocular injection. *Brain Res.* 69, 189-202 (1974).
- LaVail J.H., Winston K.R. and Tish A.: A method based on retrograde intraaxonal transport of protein for identification of cell bodies of origin of axons terminating within the CNS. *Brain Res.* 58, 470-477 (1973).
- Letoumeau P.C.: Chemotactic response of nerve fiber elongation to nerve growth factor. *Develop. Biol.* 66, 183-196 (1978).
- Levi-Montalcini R. and Angeletti P.U.: Nerve growth factor. *Physiol. Rev.* 48, 534-569 (1968).
- Levi-Montalcini R. and Calissano P.: The nerve growth factor. *Scientific American* 240, nr. 6, 68-77 (1979).
- Murphy F.A., Baner S.P., Harrison A.K. and Winn jr. W.C.: Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses. Viral infection and transmit from inoculation site to the central nervous system. *Pathol. Invest.* 28, 361-376 (1973).
- Matthews M.R. and Nelson V.H.: Detachment of structurally intact nerve endings from chromatolytic neurons of rat superior cervical ganglion during the depression of synaptic transmission induced by post-ganglionic axotomy. *J. Physiol. (Lond.)* 245, 91-135 (1975).
- Mendell L.M., Munson J.B. and Scott J.G.: Alterations of synapses on axotomized motoneurons. *J. Physiol. (Lond.)* 255, 67-79 (1976).
- Nauta H.J.W., Kaiserman-Abramof I.R. and Lasek R.J.: Electron microscopic observations of horseradish peroxidase transported from the caudo-putamen to the substantia nigra in the rat: possible involvement of the agranular reticulum. *Brain Res.* 85, 373-384 (1975).
- Nicolson G.L.: The interactions of lectins with animal cell surfaces. *Intern. Rev. Cytol.* 39, 89-190 (1974).
- Nicolson G.L., Smith J.R. and Hyman R.: Dynamics of toxin and lectin receptors on a lymphoma cell line and its toxin-resistant variant using ferritin-conjugated, ¹²⁵I-labeled ligand. *J. Cell Biol.* 78, 565-576 (1978).
- Osborne R.H. and Bradford H.F.: Tetanus toxin inhibits amino acid release from nerve endings in vitro. *Nature New Biol.* 244, 157-158 (1973).
- Paravicini U., Stoeckel K. and Thoenen H.: Biological importance of retrograde axonal transport of nerve growth factor in adrenergic neurons. *Brain Res.* 84, 279-291 (1975).
- Price R.W., Kath B.J. and Notkins A.L.: Latent infection of the peripheral ANS with Herpes simplex virus. *Nature (Lond.)* 257, 686-688 (1975).
- Purves D.: Functional and structural changes in mammalian sympathetic neurones following interruption of their axons. *J. Physiol. (Lond.)* 252, 429-463 (1975).
- Raff M.: Self regulation of membrane receptors. *Nature (Lond.)* 259, 265-266 (1975).
- Schwab M.E.: Ultrastructural localization of a nerve growth factor - horseradish peroxidase (NGF-HRP) coupling product after retrograde axonal transport in adrenergic neurons. *Brain Res.* 130, 190-196 (1977).
- Schwab M.E. and Thoenen H.: Electron microscopic evidence for a trans-synaptic migration of tetanus toxin in spinal cord motoneurons: An autoradiographic and morphometric study. *Brain Res.* 105, 213-227 (1976).
- Schwab M.E., Agid Y., Glowinski J. and Thoenen H.: Retrograde axonal transport of ¹²⁵I-tetanus toxin as a tool for tracing fiber connections in the central nervous system; connections of the rostral part of the rat neostriatum. *Brain Res.* 126, 211-224 (1977).
- Schwab M.E. and Thoenen H.: Selective trans-synaptic migration of tetanus toxin after retrograde axonal transport in peripheral sympathetic nerves: a comparison with nerve growth factor. *Brain Res.* 122, 459-474 (1977).
- Schwab M.E. and Thoenen H.: Selective binding, uptake, and retrograde transport of tetanus toxin by nerve terminals in the rat iris. *J. Cell Biol.* 77, 1-13 (1978).

- Schwab M.E., Javoy-Agid F. and Agid Y.: Labeled wheat germ agglutinin (WGA) as a new, highly sensitive retrograde tracer in the rat brain hippocampal system. *Brain Res.* **152**, 145-150 (1978).
- Schwab M.E., Otten U., Agid Y. and Thoenen H.: Nerve growth factor in the rat CNS: Absence of specific retrograde axonal transport and tyrosine hydroxylase induction in locus coeruleus and substantia nigra. *Brain Res.* **168**, 473-483 (1979a).
- Schwab M.E., Suda K. and Thoenen H.: Selective retrograde transsynaptic transfer of a protein, tetanus toxin, subsequent to its retrograde axonal transport. *J. Cell Biol.* **82**, 798-810 (1979b).
- Schwartz J.H.: Axonal transport: Components, mechanisms, and specificity. *Ann. Rev. Neurosci.* **2**, 467-504 (1979).
- Stoeckel K., Paravicini U. and Thoenen H.: Specificity of retrograde axonal transport of nerve growth factor. *Brain Res.* **76**, 413-421 (1974).
- Stoeckel K., Schwab M. and Thoenen H.: Comparison between retrograde axonal transport of nerve growth factor and tetanus toxin in motor, sensory, and adrenergic neurons. *Brain Res.* **99**, 1-16 (1975).
- Stoeckel K., Guroff G., Schwab M. and Thoenen H.: The significance of retrograde axonal transport for the accumulation of systemically administered nerve growth factor (NGF) in the rat superior cervical ganglion. *Brain Res.* **109**, 271-284 (1976).
- Stoeckel K., Schwab M.E. and Thoenen H.: Role of gangliosides in the uptake and retrograde axonal transport of cholera and tetanus toxin as compared to nerve growth factor and wheat germ agglutinin. *Brain Res.* **132**, 273-285 (1977).
- Suda K., Barde Y.A. and Thoenen H.: Nerve growth factor in mouse and rat serum: Correlation between bioassay and radioimmunoassay determinations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **75**, 4042-4046 (1978).
- Sutter A., Riopelle R.J., Harris-Warrick R.M. and Shooter E.M.: Nerve growth factor receptors. *J. Biol. Chem.* **254**, 5972-5982 (1979).
- Thoenen H., Angeletti P.U., Levi-Montalcini R. and Kettler R.: Selective induction by nerve growth factor of tyrosine hydroxylase and dopamine- β -hydroxylase in rat superior cervical ganglia. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **68**, 1598-1602 (1971).
- Thoenen H., Otten U. and Schwab M.: Orthograde and retrograde signals for the regulation of neuronal gene expression; the peripheral sympathetic nervous system as a model. In: "The Neurosciences, Fourth Study Program", MIT Press, Cambridge, Mass. 1979 (F.O. Schmitt and F.E. Worden eds.), pp. 911-928.
- Varon S.S. and Bunge R.P.: Trophic mechanisms in the peripheral nervous system. *Ann. Rev. Neurosci.* **1**, 327-361 (1978).
- Wagner J.A., Schick-Kelly A. and Kelly R.B.: Nerve terminal proteins of the rabbit visual relay nuclei identified by axonal transport and two-dimensional gel electrophoresis. *Brain Res.* **168**, 97-117 (1979).
- Walz M.A., Price R.W. and Notkins A.L.: Latent ganglionic infection with Herpes simplex virus types 1 and 2: Viral reactivation *in vivo* after neurectomy. *Science* **184**, 1185-1187 (1974).
- Willard M., Cowan W.M. and Vagelos P.R.: Polypeptide composition of intra-axonally transported proteins: Evidence for four transport velocities. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **71**, 2183-2187 (1974).

Adresse des Autors: PD Dr. M. Schwab, Abteilung Neurochemie, Max Planck Institut für Psychiatrie, D-8033 Martinsried bei München (BRD).

