

**Bild 1:** Das hier in 135-facher Vergrößerung gezeigte, dicht von Nervenfasern umgebene sympathische Ganglion stammt aus einem Küken-Embryo. Es wuchs zwölf Stunden in einem Nährmedium, das den Nervenwachstumsfaktor

enthielt. Der Nervenwachstumsfaktor wurde zuerst in einem bei Mäusen auftretenden Tumor (Sarkom 180) entdeckt und später auch in anderen Zellen gefunden. 1953 zeigten Rita Levi-Montalcini und Hertha Meyer, daß der

Faktor ein in einer Gewebekultur isoliertes sympathisches Ganglion veranlaßt, zahlreiche Nervenfasern zu bilden. Diese Entdeckung führte zur Isolierung des Faktors und zur Bestimmung seiner chemischen Struktur.

# Der Nervenwachstumsfaktor

Von Rita Levi-Montalcini  
und Pietro Calissano

Das menschliche Nervensystem ist ein komplexes Netz aus einigen Milliarden Nervenzellen (Neuronen), die die Fähigkeit haben, Signale zu empfangen, zu speichern und weiterzuleiten. Wenn die Neurone untereinander oder mit nicht zum Nervensystem gehörenden Zellen kommunizieren, wirken ihre langen Fortsätze, die Nervenfasern (Axone), ungefähr wie elektrische Leitungen, aber sie sind flüssigkeitsgefüllte, zylindrische Strukturen, die auch Nährstoffe und andere wichtige Substanzen vom und zum Zellkörper transportieren können.

Viele Fragen, die die Entstehung dieses verwickelten Netzwerkes betreffen, sind noch unbeantwortet: Wie differenzieren sich die Nervenzellen in Tausende verschiedener Typen? Wie bilden ihre Axone Verbindungen (Synapsen) mit anderen Neuronen und mit Zellen, die nicht zum Nervensystem gehören? Welcher Art sind die chemischen „Botschafter“ (die Neurotransmitter), die in den Synapsen die Informationen von einer Zelle zur nächsten weitergeben?

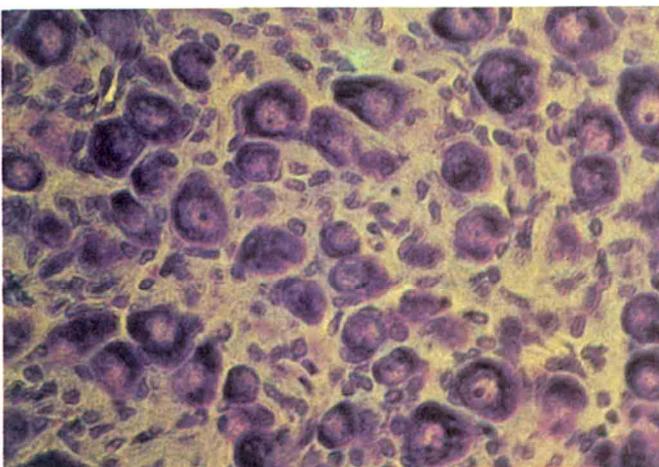
Das Nervensystem der Wirbeltiere besteht aus dem Zentralnervensystem, das Gehirn und Rückenmark umfaßt, und aus dem peripheren Nervensystem, dem man alle außerhalb von Gehirn und Rückenmark liegenden Nervengewebe zuordnet. Im peripheren System unterscheidet man drei Arten von Nervenzellen: sensorische Neurone, die Impulse von den Sinnesorganen zum Gehirn leiten; motorische Neurone, die Befehle aus dem Zentralnervensystem zu den Skelettmuskeln transportieren; und die autonomen Neurone, die die Tätigkeit des Blutkreislaufs der inneren Organe, der Drüsen und der glatten Muskeln (beispielsweise der Muskeln des Darms) steuern. Es gibt zwei Arten autonomer Neurone: Sympathische und parasympathische. Die sensorischen Neurone und ein Teil der sympathischen Neurone bilden zwei Ketten von Ganglien (Bild 3), die außerhalb der Wirbelsäule das Rückenmark flankieren und die für experimentelle Eingriffe besonders leicht zugänglich sind. Ein Großteil der Forschung an den Zellen des sich entwick-

*Gewebe, die von Fasern des sympathischen Nervensystems innerviert werden, bilden einen Eiweißstoff, dem man den Namen „Nervenwachstumsfaktor“ gegeben hat, weil sein Vorhandensein für das Wachstum der Nervenfasern und für das Überleben der Nervenzellen, von denen die Fasern ausgehen, unabdingbar ist.*

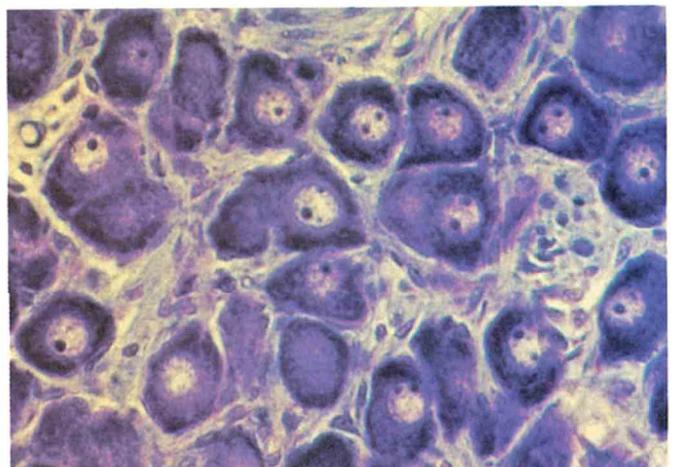
kelnden Nervensystems konzentriert sich daher auf die Frage: Wie kommen die Nervenfasern, die von den sensorischen und sympathischen Ganglien ausgehen, in Verbindung mit ihren Zielorganen?

## Entdeckung

In der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts schien ein neuer Wissenschaftszweig, die experimentelle Embryologie, die besten Möglichkeiten zur Untersuchung dieser Frage zu bieten. Ross G. Harrison von der Yale-Universität stellte damals dem Nervensystem einer Amphibienlarve eine ungewöhnliche Aufgabe: es sollte Glieder und Organe innervieren, die von anderen Tierarten stammten und der Larve eingepflanzt wurden. Würden die sensorischen und sympathischen Ganglien der Larve die fremden Körperteile erreichen und würden ihre Axone sich den ungewohnten Abmessungen und Anordnungen der fremden Organe anpassen? Das sich entwickelnde Nervensystem der Amphibien-Larve erwies sich als

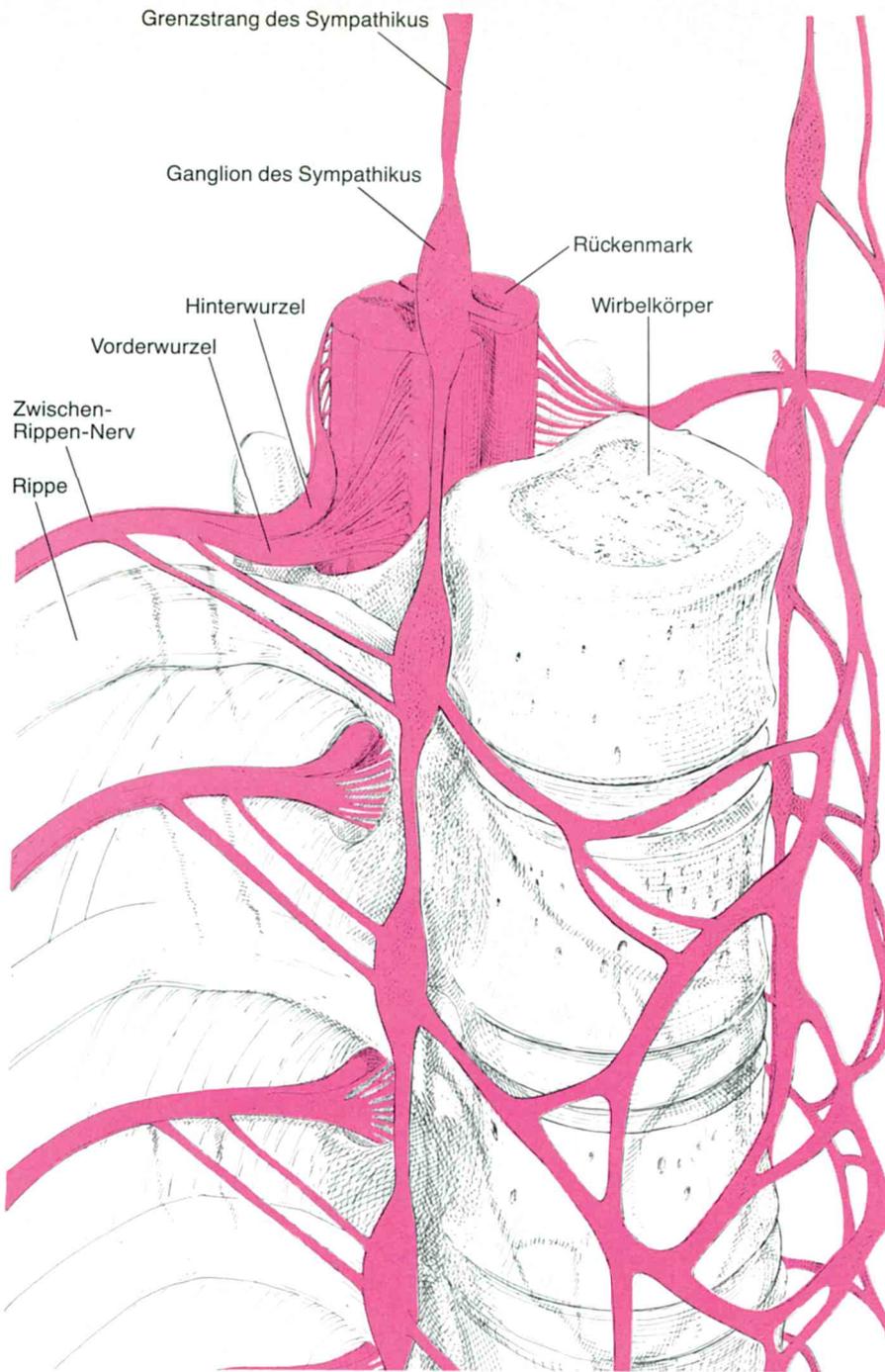


**Bild 2:** Behandelt man neugeborene Mäuse mit dem Nervenwachstumsfaktor, so vermehren und vergrößern sich die Nervenzellen (Neurone) in den sympathischen Ganglien der Tiere, so daß auch die Ganglien selbst größer werden.



Das Bild zeigt Mikrophotographien von Schnitten durch zwei Ganglien: links das Ganglion einer drei Wochen alten Maus, der täglich Kochsalzlösung injiziert wurde, rechts das einer Maus aus dem gleichen Wurf, die Nerven-

wachstumsfaktor erhielt. Die Neurone der mit Nervenwachstumsfaktor behandelten Maus sind wesentlich größer. Sie haben auch eine größere Affinität für Toluidin-Blau, das hier zur Färbung der Zellen verwendet wurde.



**Bild 3:** Die bei Säugetieren außerhalb der Wirbelsäule parallel zum Rückenmark verlaufenden Ganglienstränge enthalten die Zellkörper der sympathischen Neurone, die die inneren Organe, Blutgefäße, glatten Muskeln und Drüsen innervieren. Das Bild skizziert die Verhältnisse beim Menschen. Die unregelmäßig geformten Ganglien sind untereinander und mit den Wurzeln des Rückenmarks durch Nervenfasern verbunden. Bei der Entwicklung des Nervensystems wachsen von den Neuronen der Ganglien Nervenfasern zu den Zielorganen (siehe Bild 9). Das Wachstum dieser Fasern setzt die Anwesenheit des Nervenwachstumsfaktors voraus.

zeigen, daß die Größe eines sensorischen Ganglions von der Größe und der Wachstumsgeschwindigkeit des Feldes abhängt, das vom Ganglion innerviert wird. Später fanden wir dann jedoch, daß die sympathischen Ganglien, die gleichfalls Nervenfasern in das Gebiet des Tumors schicken, noch wesentlich stärker (nämlich fünf- bis sechsmal) vergrößert waren als die gleichen Ganglien in Kontrolltieren, obwohl ihre Fasern mit den Tumorzellen überhaupt keine Synapsen bildeten. Außerdem waren die Eingeweide der Embryonen, denen der Tumor eingepflanzt worden war, mit gewaltigen Mengen sympathischer Nervenfasern gefüllt, und zwar lange bevor die Eingeweide der Kontrolltiere auch nur eine spärliche Innervation aufwiesen. Die Fasern bahnten sich ihren Weg in großen und kleinen Venen und behinderten oder blockierten den Blutfluß.

Offenbar war dieses übermäßige Wachstum der sympathischen Ganglien mehr als nur eine Reaktion auf das schnelle Wachstum des Tumors. Es sah vielmehr so aus, als schützte der Tumor irgendeine Substanz aus, die das Wachstum der sympathischen Ganglien und die übermäßige Verzweigung ihrer Nervenfasern bewirkte. Um diese Hypothese zu prüfen, wurden Sarkom-180-Tumoren in die Atmungsmembran von bebrüteten Hühnereiern eingepflanzt. Diese Membran ist von Blutgefäßen durchwachsen, die vom Embryo kommen und zu ihm führen. Der Tumor und das sich entwickelnde Küken-Embryo befanden sich also nicht in direktem Kontakt, teilten sich aber die Blutversorgung. Die Tumoren in der Atmungsmembran hatten die gleiche wachstumsfördernde Wirkung auf die sympathischen Ganglien wie die unmittelbar in die Embryonen implantierten Tumore. Damit war bewiesen, daß der Tumor tatsächlich einen löslichen Faktor ausschüttet, der vom Blut zum Embryo transportiert wird.

### Identifizierung

Wir mußten diesen Nervenwachstumsfaktor nun identifizieren. Dazu brauchten wir ein einfacheres System als den wach-

überraschend flexibel, und Harrison schloß daraus, daß die überpflanzten Organe und Gewebe in der Lage sind, das Wachstum der Nervenfasern der Amphibien-Larve zu beeinflussen.

Viktor Hamburger von der Universität von Washington führte die Arbeiten weiter, bevorzugte als Forschungsobjekt aber das Küken-Embryo, weil dessen Nervenbahnen klarer umrissen sind und sich mit silberhaltigen Färbemitteln leichter sichtbar machen lassen. Hamburger verpflanzte Gliederknospen auf Küken-Embryonen, die sich in einem sehr frühen Entwicklungsstadium befanden, und beobachtete, daß sie von sensorischen und sympathischen Fasern innerviert wurden. 1948 ersetzte Elmer D. Bueker von der

Georgetown-Universität in drei Tage alten Küken-Embryonen jeweils eine der normalen Gliederknospen durch ein Stück Vogel- oder Säugetiertumor. Tumorzellen sind im Gegensatz zu normalem Gewebe undifferenziert. Nur eine der drei implantierten Tumorarten wuchs kräftig. Sie stammte aus Bindegewebszellen der Maus und wird als Sarkom 180 bezeichnet. Die Embryonen innervierten die Tumoren mit Nervenfasern aus benachbarten sensorischen Ganglien. In Embryonen, die nach fünf Tagen getötet wurden, waren diese Ganglien um dreiunddreißig Prozent größer als Ganglien, die die in den Embryonen verbliebenen normalen Gliederknospen innervierten. Anfänglich schien diese Beobachtung zu

senden Embryo. Die Gewebekultur (die in den frühen fünfziger Jahren von ihrer heutigen Universalität noch weit entfernt war) schien eine brauchbare Alternative zu bieten. Wenn nämlich das Sarkom 180 einen Faktor ausschüttet, der das Nervenwachstum verstärkt, dann mußte die gemeinsame Kultur von Tumor und isoliertem sympathischen Ganglion zum selben Ergebnis führen. 1953 unternahm Rita Levi-Montalcini und Hertha Meyer am Biophysikalischen Institut in Rio de Janeiro dieses Experiment. Aus acht Tage alten Küken-Embryonen wurden sensorische und sympathische Ganglien isoliert und zusammen mit Sarkom-180-Teilen in einem Nährmedium kultiviert. Schon nach zehn Stunden waren die isolierten Ganglien von einem dichten Kranz von Nervenfasern umgeben (Bild 1), während Kontrollganglien, die ohne Sarkom 180 kultiviert wurden, lediglich spärliche und unregelmäßige Auswüchse von Nervenfasern zeigten (Bild 4). Die Entdeckung, daß der Tumor seinen wachstumsfördernden Einfluß auch auf isolierte Ganglien in der Gewebekultur ausübt, war der Wendepunkt unserer Forschung. Jetzt konnten wir in wenigen Stunden zahlreiche Gewebe, Flüssigkeiten und Chemikalien prüfen, um die Quelle der wachstumsfördernden Aktivität zu finden, und wir konnten uns an die Isolierung des Nervenwachstumsfaktors wagen.

Es gelang uns, den Biochemiker Stanley Cohen als Mitglied unserer Arbeitsgruppe an der Universität von Washington zu gewinnen. Er konnte bald zeigen, daß sich die wachstumsfördernde Aktivität in einer Fraktion der Tumorzellen befand, die aus Protein und Nucleinsäure bestand. Das war der Anfang der biochemischen Feinanalyse, aber ohne ein zufälliges Ereignis, das zwei Jahre später eintrat, wären wir nicht viel weiter gekommen: Um festzustellen, ob der Nervenwachstumsfaktor ein Protein oder eine Nucleinsäure war, behandelten wir die erwähnte Fraktion der Tumorzellen mit einem Schlangengift, das eine hohe Konzentration des Enzyms Phosphodiesterase enthält. Dieses Enzym zerstört Nucleinsäuren. Zu unserer Überraschung steigerte sich der wachstumsfördernde Effekt bereits bei minimaler Zugabe des Giftes statt gedrosselt zu werden. Es

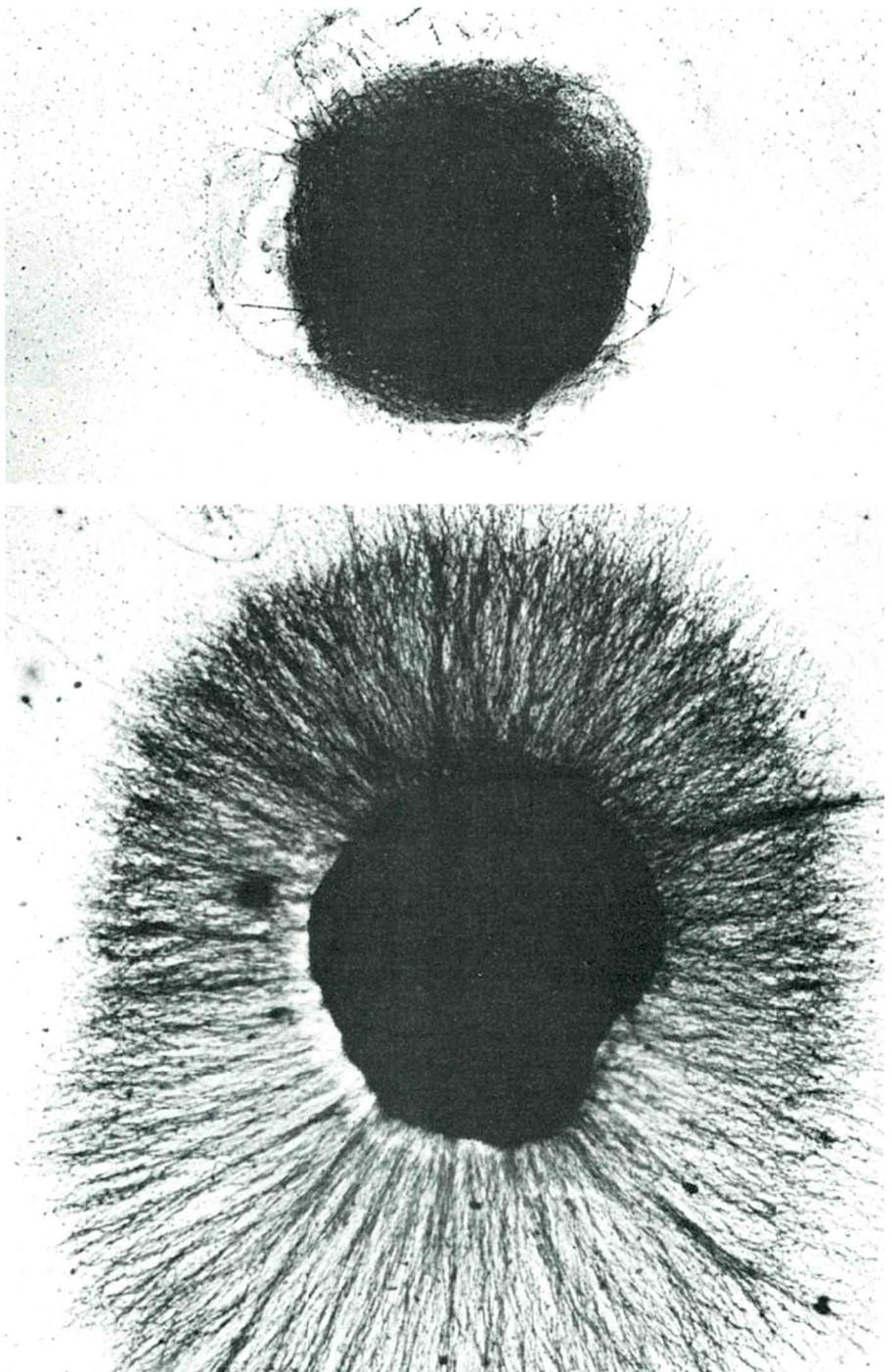
**Bild 4:** Der biologische Nachweis des Nervenwachstumsfaktors basiert auf seiner Fähigkeit, auch ein in einer Gewebekultur isoliertes Ganglion zur Bildung von Nervenfasern zu veranlassen (siehe auch Bild 1). Die Mikrophotographien zeigen sensorische Ganglien, die aus einem acht Tage alten Küken-Embryo herauspräpariert und zwölf Stunden entweder ohne (oben) oder mit zehn Mikrogramm reinem Nervenwachstumsfaktor (unten) kultiviert wurden. Anschließend wurden die Ganglien und die von ihnen gebildeten Fasern gefärbt.

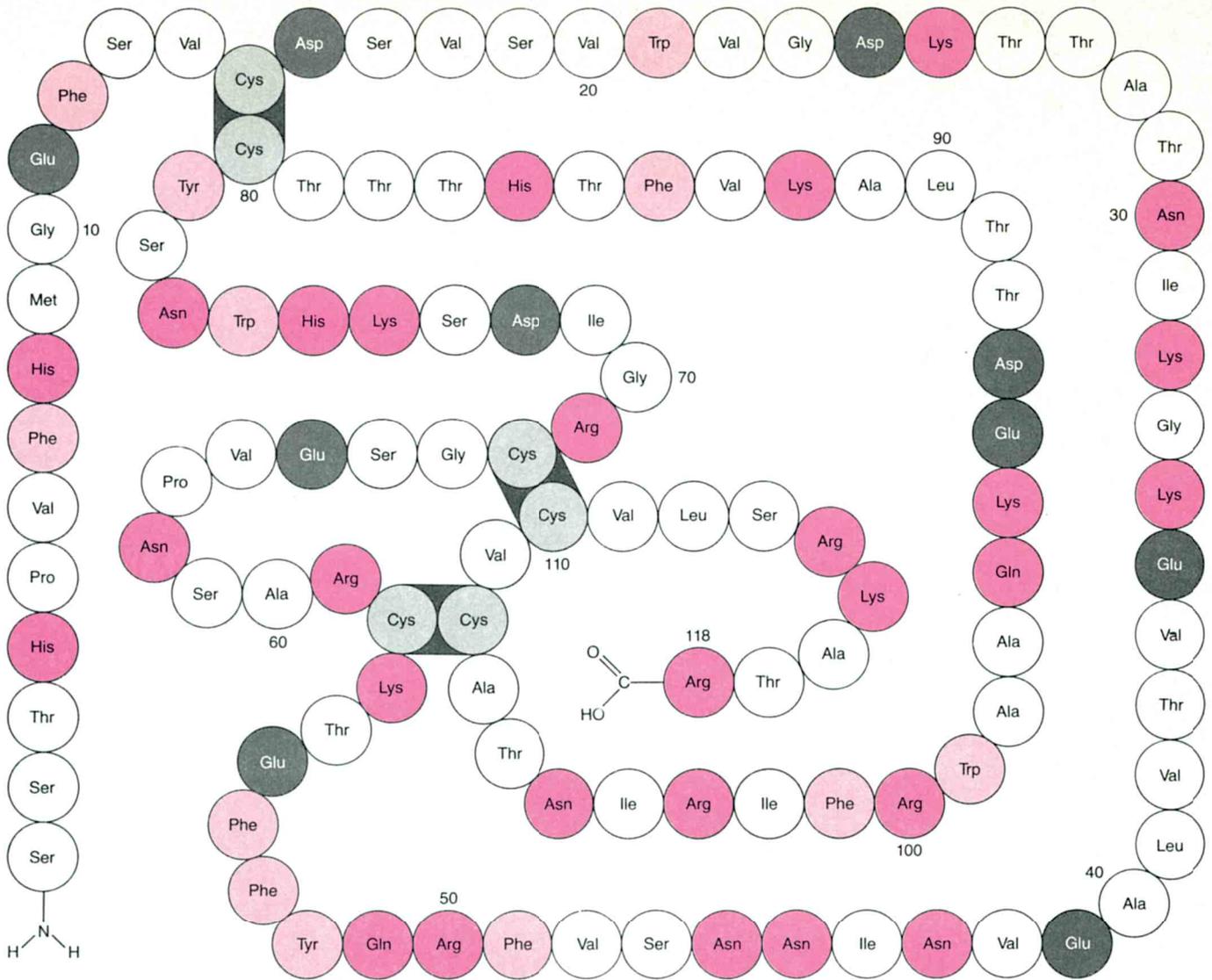
zeigte sich bald, daß das Schlangengift selbst die Ursache der erhöhten Aktivität war. Kleine Giftmengen lösten im Kulturmedium auch ohne das Sarkom 180 die Bildung eines dichten Kranzes von Nervenfasern um das isolierte sensorische oder sympathische Ganglion aus.

Das Schlangengift enthielt sogar viel größere Mengen des Nervenwachstumsfaktors als die Zellen des Sarkoms 180. Cohen konnte den Faktor aus dem Gift isolieren und beweisen, daß es sich um ein Protein handelt. Eine Injektion des aus dem Gift isolierten Faktors in einen wachsenden Embryo hatte die gleiche übermäßige sympathische Innervierung der Eingeweide und Blutgefäße zur Folge wie

die Einpflanzung von Sarkom-180-Zellen.

Die Entdeckung, daß zwei so verschiedene Dinge wie Maussarkom und Schlangengift den Nervenwachstumsfaktor enthalten, ließ vermuten, daß auch andere Gewebe den Faktor produzieren. Unsere Aufmerksamkeit konzentrierte sich auf die Unterkieferspeicheldrüse der Nagetiere, die in mancher Hinsicht der Giftdrüse der Schlangen ähnelt. Tatsächlich konnte Cohen aus der Speicheldrüse der Maus den Nervenwachstumsfaktor in einer Menge isolieren, die zehntausendmal wirksamer ist als das Sarkom 180 und etwa zehnmal wirksamer als das Schlangengift. Im Lauf der folgenden zwanzig





Ala	Alanin	Leu	Leucin
Arg	Arginin	Lys	Lysin
Asn	Asparagin	Met	Methionin
Asp	Asparaginsäure	Phe	Phenylalanin
Cys	Cystein	Pro	Prolin
Gln	Glutamin	Ser	Serin
Glu	Glutaminsäure	Thr	Threonin
Gly	Glycin	Trp	Tryptophan
His	Histidin	Tyr	Tyrosin
Ile	Isoleucin	Val	Valin

**Bild 5:** Der Nervenwachstumsfaktor gehört chemisch gesehen zu den Eiweißstoffen (Proteinen). Sein hier schematisch dargestelltes Molekül besteht aus 118 Bausteinen, die man als Aminosäuren bezeichnet. Jede Aminosäure ist im Bild durch einen Kreis markiert, in dem die ersten drei Buchstaben des Namens der Aminosäure stehen. Dunkelfarbige Kreise symbolisieren elektrisch positiv geladene, dunkelgraue Kreise negativ geladene Aminosäuren. Weiße Kreise bedeuten elektrisch neutrale Aminosäuren, hellfarbige Kreise stehen für Aminosäuren,

die einen aromatischen Ring enthalten. An den Stellen, an denen sich hellgraue Kreise auf schwarzem Grund befinden, ist das Molekül mit sich selbst durch eine aus zwei Schwefelatomen bestehende Brücke verknüpft. Jede der hellgrau markierten Aminosäuren trägt ein Schwefelatom zur Bildung der Brücken bei. In seiner natürlichen Form ist das Molekül des Nervenwachstumsfaktors nicht wie in dieser Skizze in einer Ebene ausgebreitet, sondern in drei Dimensionen gefaltet. Die Reihenfolge der Aminosäuren bestimmt die Art der Faltung.

Jahre wurden in den Sekreten einer breiten Palette von normalen Zellen und Tumorzellen kleinere Mengen des Faktors gefunden.

1969 gelang es, die Reihenfolge der Bausteine (der Aminosäuren) zu ermitteln, aus denen das Molekül des Nervenwachstumsfaktor besteht. Der biologisch wirksame Faktor ist ein Dimer, das heißt, er setzt sich aus zwei gleichartigen Polypeptidketten zusammen, deren jede eine relative Molekülmasse von 13250 hat. Bild 5 zeigt eine dieser Polypeptidketten. Man erkennt, daß die elektrisch positiv geladenen Aminosäuren die negativ gela-

denen überwiegen, so daß sich das Molekül bei neutralem pH-Wert positiv geladen verhält. Drei Brücken, deren jede aus zwei Schwefelatomen besteht, geben dem Molekül eine eigentümlich geschlungene Form. Solche Schwefel-Schwefel-Brücken sind in Proteinen, die von Zellen sekretiert werden, keine Seltenheit. Sie scheinen dafür zu sorgen, daß das Molekül nicht denaturiert und damit seine Wirksamkeit verliert.

Ein Vergleich der Aminosäuresequenz des Nervenwachstumsfaktors mit denen anderer Proteine ergab eine teilweise Übereinstimmung mit der Struktur des

Insulins, so daß sich das Gen, das die Synthese des Nervenwachstumsfaktors steuert, aus einem Ur-Insulin-Gen entwickelt haben könnte.

Der dimere Nervenwachstumsfaktor bildet mit zwei anderen Proteinen, die man als  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten bezeichnet, einen stabilen Komplex (Bild 6). Die  $\gamma$ -Untereinheit ist ein Enzym, das Eiweißmoleküle neben der Aminosäure Arginin spaltet. Die  $\alpha$ -Untereinheit hat dagegen keine erkennbare biologische Aktivität. Für die seltsame Vereinigung dreier so unterschiedlicher Proteinarten mußte eine Erklärung gefunden werden.

Bei der Synthese des Nervenwachstumsfaktors entsteht zunächst ein größeres, als Pro-Nervenwachstumsfaktor bezeichnetes Molekül, von dem sich zwei Exemplare zu einem Dimer zusammenlagern (Bild 6). Zwei  $\gamma$ -Untereinheiten vereinigen sich mit dem Dimer und spalten von jedem der beiden Pro-Faktoren ein Stück ab, so daß die biologisch aktive Form des Faktors entsteht. Danach bleiben die beiden  $\gamma$ -Untereinheiten mit dem Dimer des aktiven Faktors verbunden. Die beiden  $\alpha$ -Untereinheiten können sich mit dem Komplex vor oder nach der Spaltung verbinden. Die Vereinigung des Nervenwachstumsfaktors mit den  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten dient wahrscheinlich dem Schutz des Faktors vor anderen protein-spaltenden Enzymen.

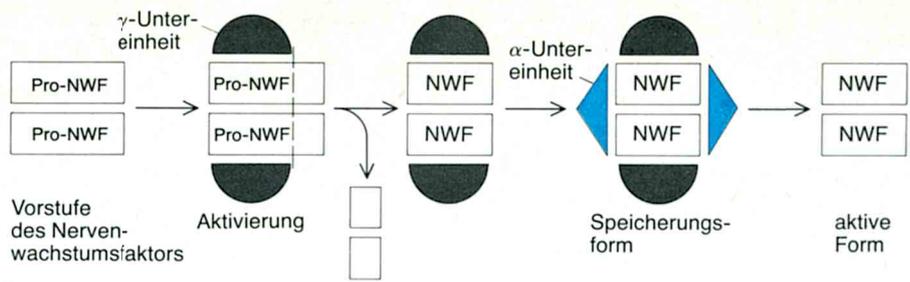
Kürzlich gelang es, den Pro-Nervenwachstumsfaktor allein zu erhalten. Brachte man ihn mit der  $\gamma$ -Untereinheit zusammen, so trat eine vollständige Umwandlung in biologisch aktiven Nervenwachstumsfaktor ein.

Die biologische Aktivität eines Proteins hängt davon ab, daß sich das Molekül zu einer dreidimensionalen Struktur falten kann, die im einzelnen durch seine Aminosäuresequenz bestimmt wird. Die einzige Methode, um die dreidimensionale Struktur eines Proteins zu bestimmen, besteht darin, es zu kristallisieren und mit Röntgenstrahlen zu untersuchen. Die Kristallisation des Nervenwachstumsfaktors ist kürzlich gelungen.

## Wirkung

Den ersten Einblick in die Funktion des Nervenwachstumsfaktors in lebenden Tieren brachten Experimente, die wir 1959 an der Universität von Washington unternahmen. Wir injizierten Kaninchen den aus Mäusen gewonnenen Faktor. Wie bei einer Impfung bildeten die Kaninchen daraufhin Antikörper gegen den Faktor. Kleine Mengen Kaninchen Serum, das die Antikörper enthielt, wurden in neugeborene Mäuse injiziert. Einen Monat später wurden die Mäuse getötet. Ihre sympathischen Ganglien waren so klein, daß sie unter dem Seziernmikroskop kaum noch zu sehen waren. Aber die Antikörper hatten kein anderes Organ oder Gewebe der Mäuse beeinträchtigt und – unerklärlicherweise – auch die sympathischen Ganglien nicht, die die Geschlechtsorgane kontrollieren. Es war daher möglich, ganze Mäusekolonien, denen sämtliche sympathisch-nervösen Funktionen fehlten, bis zur Geschlechtsreife zu züchten. In jeder anderen Hinsicht verhielten sich die Tiere normal.

Wir wissen noch nicht, ob die von den Kaninchen gebildeten Antikörper in den Mäusen auf unreife sympathische Neurone toxisch wirken oder die von den



**Bild 6:** Der Nervenwachstumsfaktor (NWF) wird vom Organismus zunächst in Form einer Vorstufe (Pro-NWF) synthetisiert, die um einige Aminosäuren länger ist als das in Bild 5 gezeigte Molekül. Zwei Moleküle dieser Vorstufe lagern sich zusammen (bilden ein Dimer) und vereinigen sich mit zwei weiteren Eiweißmolekülen, die man als  $\gamma$ -Untereinheiten bezeichnet. Diese spalten aus jedem Molekül Pro-NWF so viele Aminosäuren ab, daß jeweils das

in Bild 5 gezeigte Molekül des eigentlichen Nervenwachstumsfaktors (NWF) übrigbleibt. Der Komplex aus zwei Molekülen Nervenwachstumsfaktor und zwei  $\gamma$ -Untereinheiten vereinigt sich sodann mit zwei Eiweißmolekülen, die als  $\alpha$ -Untereinheiten bezeichnet werden. In dieser Form wird der Nervenwachstumsfaktor im Organismus gespeichert. Beim Übergang in die wirksame Form werden die  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten abgespalten.

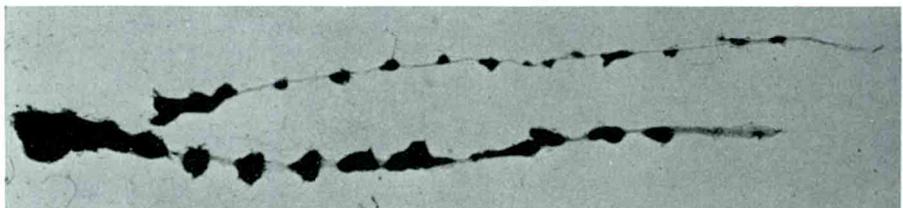
Mäusen gebildeten Moleküle des Nervenwachstumsfaktors inaktivieren. Im zweiten Fall würden die sympathischen Neurone der Mäuse durch den Mangel an Wachstumsfaktor beeinträchtigt, den sie für ihre normale Entwicklung brauchen. Die zweite Möglichkeit scheint die wahrscheinlichere zu sein.

1963 zerlegten wir sensorische und sympathische Ganglien in ihre Komponenten: Neurone, Gliazellen (die die Neurone tragen und nähren) und Fibroblasten. Brachte man jede dieser Komponenten für sich und ohne den Nervenwachstumsfaktor vierundzwanzig Stunden lang in ein Kulturmedium, so vermehrten sich die Gliazellen und die Fibroblasten, während die Neurone degenerierten. Wurde die Kultur der Neurone dagegen täglich mit einer kleinen Menge des Nervenwachstumsfaktors versetzt, so überlebten die Nervenzellen auf unbegrenzte Zeit und bildeten ein dichtes Netzwerk aus Nervenfasern, das nach einigen Tagen den ganzen Boden der Kulturschale bedeckte.

Wir haben die Wirkung des Nervenwachstumsfaktors auch in lebenden Tieren untersucht. Injiziert man einem neugeborenen Nagetier pro Gramm Körpergewicht zehn Mikrogramm Nervenwachstumsfaktor, so werden seine sympathi-

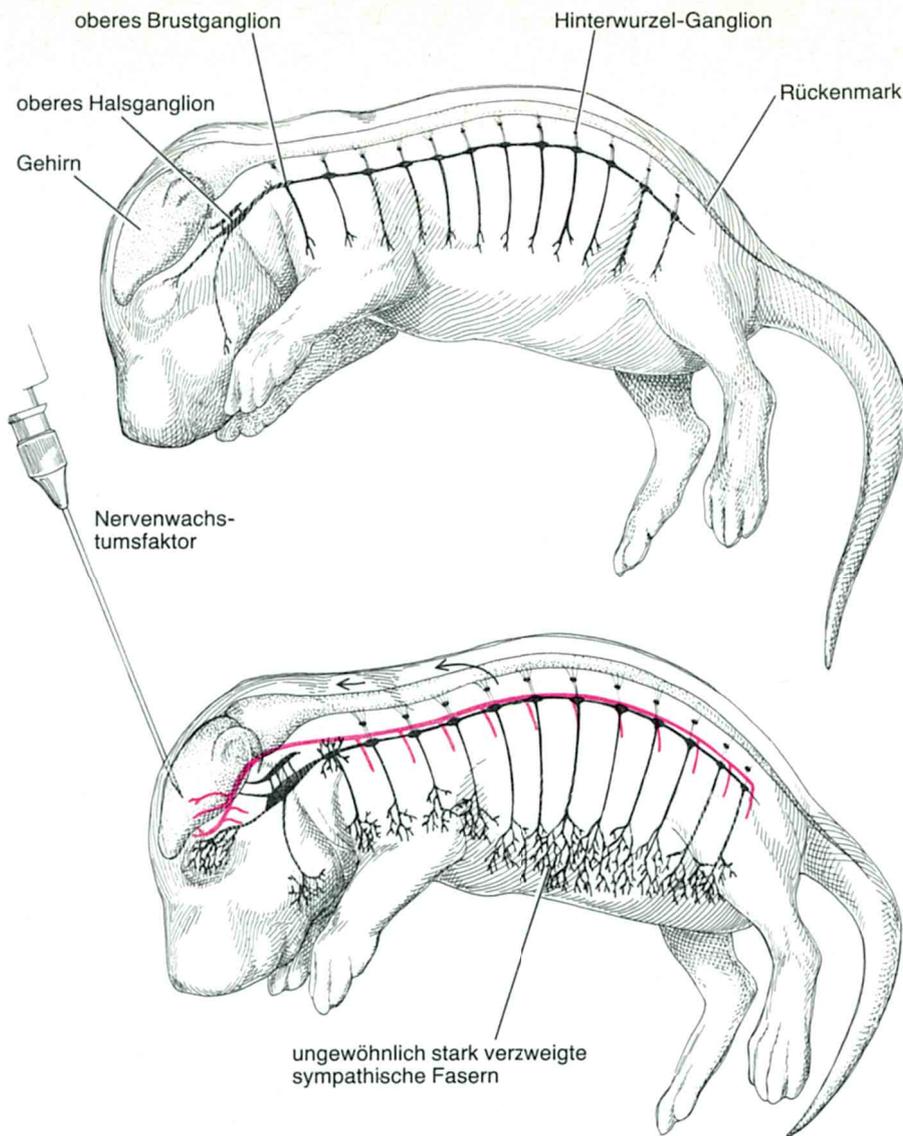
schen Ganglien zehn- bis zwölfmal größer als die von unbehandelten Kontrolltieren (Bild 2 und Bild 7). Die Vergrößerung der sympathischen Ganglien beruht auf einer schnelleren Differenzierung der sympathischen Neurone, auf einer Erhöhung der Neuronenzahl in den Ganglien und auf einer Vergrößerung der voll differenzierten Neurone (Bild 2).

Der Nervenwachstumsfaktor erhöht die Zahl der Neurone in den sympathischen Ganglien, indem er unreife Neurone, die normalerweise im Lauf der Entwicklung absterben, überleben läßt. Bei der Bildung eines Nervensystems ist der Zelltod ein gewöhnliches Ereignis: Ganze „Völker“ unreifer Neurone sterben aus oder werden reduziert. Im frühen Entwicklungsstadium eines Embryos kann die Zahl der toten Nervenzellen in den sensorischen und sympathischen Ganglien größer sein als die der lebenden. Wahrscheinlich sind alle unreifen Neurone, die keine Verbindung zu ihren Zielzellen knüpfen, zum Absterben verurteilt, und die zunächst entstehende große Zahl von Neuronen dient nur dazu, die Herstellung aller nötigen Verbindungen zu sichern. Die künstliche Zufuhr des Nervenwachstumsfaktors ermöglicht auch den Neuronen das Überleben und die Differenzierung, die keine Verbindung



**Bild 7:** Zwei Ganglienstränge von drei Wochen alten Mäusen aus demselben Wurf sind hier gezeigt. Sie unterscheiden sich in der Größe der Ganglien, denn der Maus, von der der unten abgebildete Strang stammt, wurden täglich zehn

Mikrogramm Nervenwachstumsfaktor pro Gramm Körpergewicht injiziert, während die Maus, zu der der oben abgebildete Strang gehörte, nur mit einer Kochsalzlösung behandelt wurde.



**Bild 8:** Von zwei neugeborenen Ratten erhielt eine (unten) zehn Tage lang täglich eine Injektion des Nervenwachstumsfaktors ins Gehirn, während der anderen (oben) nur Kochsalzlösung injiziert wurde. Bei der im unteren Bildteil gezeigten Ratte diffundierte der Nervenwachstumsfaktor aus dem Gehirn in das Rückenmark und erreichte über die Rückenmarkswurzeln die sympathischen Ganglien, die daraufhin begannen, verstärkt Nervenfasern zu bilden. Diese Fasern wuchsen längs des Diffusionsweges

des Nervenwachstumsfaktors durch das Rückenmark bis zur Injektionsstelle im Gehirn (farbige Linie). Dieses anomale Wachstum der Nervenfasern zeigt, daß das Konzentrationsgefälle des Nervenwachstumsfaktors die Wachstumsrichtung der Nervenfasern bestimmt. Man beachte, daß sich in dem Tier, das mit Nervenwachstumsfaktor behandelt wurde (unten), die normal gewachsenen Fasern der sympathischen Ganglien (schwarze Linien) wesentlich stärker verzweigt haben.

mit einem Zielorgan herstellen können. Der Nervenwachstumsfaktor scheint aber auch für die Führung der Nervenfasern zu ihren Zielorganen von Bedeutung zu sein. Drei Erklärungen für die Bildung der Verbindungen zwischen Nervenzellen und ihren Zielorganen sind denkbar: (1) ein Programm, das in jedem Neuron genetisch kodiert ist und das Verhalten des Neurons festlegt; (2) ein Zufallsprozeß, bei dem die Nervenzellen, die die richtigen Verbindungen herstellen, gestärkt werden und die Versager absterben; (3) eine Wechselwirkung zwischen genetischen und äußeren Faktoren. Die erste Erklärung ist unwahrscheinlich, denn sie

würde viel mehr Information erfordern als sich mit der im Zellkern eines Neurons enthaltenen Desoxyribonucleinsäure (DNS) kodieren läßt. Auch die zweite Erklärung ist unwahrscheinlich, denn ein Zufallsprozeß würde zuviel Zeit in Anspruch nehmen und Energie und Reserven verschwenden. Ein Zusammenwirken genetischer und äußerer Faktoren ist am wahrscheinlichsten. Der spanische Neurologe Santiago Ramón y Cajal war der erste, der die Mitwirkung äußerer Faktoren vermutete. Er stellte sie sich als chemische Signale aus dem peripheren Gewebe vor, die die wachsenden Nervenfasern zu ihren Zie-

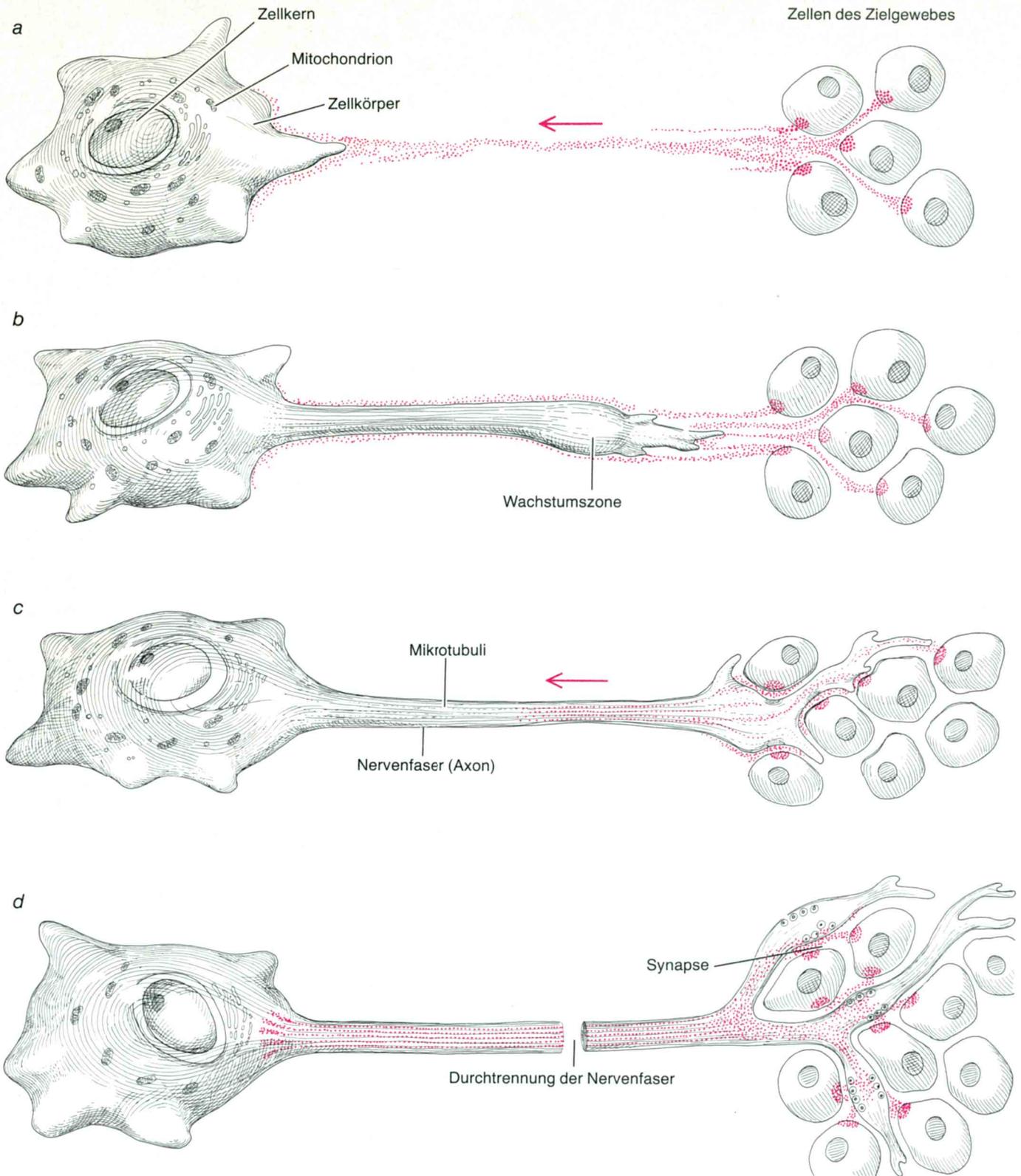
len lotsen, und bezeichnete dieses Prinzip als Neurotropismus. Seine Hypothese wurde jahrelang nicht beachtet, da es keine Möglichkeit gab, solche Faktoren im lebenden Embryo aufzuspüren. Die Entdeckung und Isolierung des Nervenwachstumsfaktors gestattet es, das Konzept des Neurotropismus neu zu erörtern.

Experimente mit lebenden Tieren und in Gewebekulturen erbrachten überzeugende Beweise für die Mitwirkung des Nervenwachstumsfaktors bei der Entstehung neuronaler Schaltungen. Injiziert man den Nervenwachstumsfaktor in das Gehirn neugeborener Nagetiere, so sprießen Nervenfasern aus den sympathischen Ganglien und besiedeln Gehirn und Rückenmark (Bild 8). Offenbar diffundiert der in das Gehirn injizierte Wachstumsfaktor durch die motorischen und sensorischen Wurzeln des Rückenmarks (Bild 3), erreicht die sympathischen Ganglien längs des Rückenmarks und löst dort das Wachstum der Nervenfasern aus. Diese Vorstellung impliziert, daß sich die Spitze einer wachsenden Nervenfaser am Konzentrationsgefälle des aus dem Zielorgan ausgeschütteten Nervenwachstumsfaktors orientiert.

Robert B. Campenot von der Harvard Medical School konstruierte ein Zellkultursystem aus drei Kammern, zwischen denen sich Sperren aus wasserundurchlässigem Siliconfett befanden. In die Zentralkammer wurden unreife sympathische Neurone zusammen mit dem Nervenwachstumsfaktor gebracht. Durch Ritzen im Boden der Kulturschale konnten die Neurone ihre Nervenfasern durch die Siliconsperrern hindurchwachsen lassen. Campenot füllte eine Seitenkammer mit einer Nährlösung, die den Nervenwachstumsfaktor enthielt, und die andere Seitenkammer mit derselben Lösung ohne den Faktor. Die Nervenfasern wuchsen aus der Zentralkammer ausschließlich in die Seitenkammer, in der sich der Wachstumsfaktor befand. Entfernte man den Faktor aus dieser Kammer, so degenerierten die eingewanderten Nervenfasern, während die Zellkörper in der Zentralkammer, die den Wachstumsfaktor weiterhin enthielt, überlebten.

Dieses Experiment gab die Antwort auf die alte Frage, ob wachsende Nervenfasern durch chemische Faktoren zu ihrem Ziel gelenkt werden. Da das periphere Gewebe, das von den sympathischen Ganglien innerviert wird, kleine Mengen des Nervenwachstumsfaktors sekretiert, scheint jetzt klar zu sein, daß das so entstehende Konzentrationsgefälle des Faktors die Nervenfasern zu ihrem Zielgewebe führt (Bild 9). Hat die wachsende Nervenfaser das Zielgewebe erreicht, so bildet sich die strukturelle und funktionelle Organisation der Synapse.

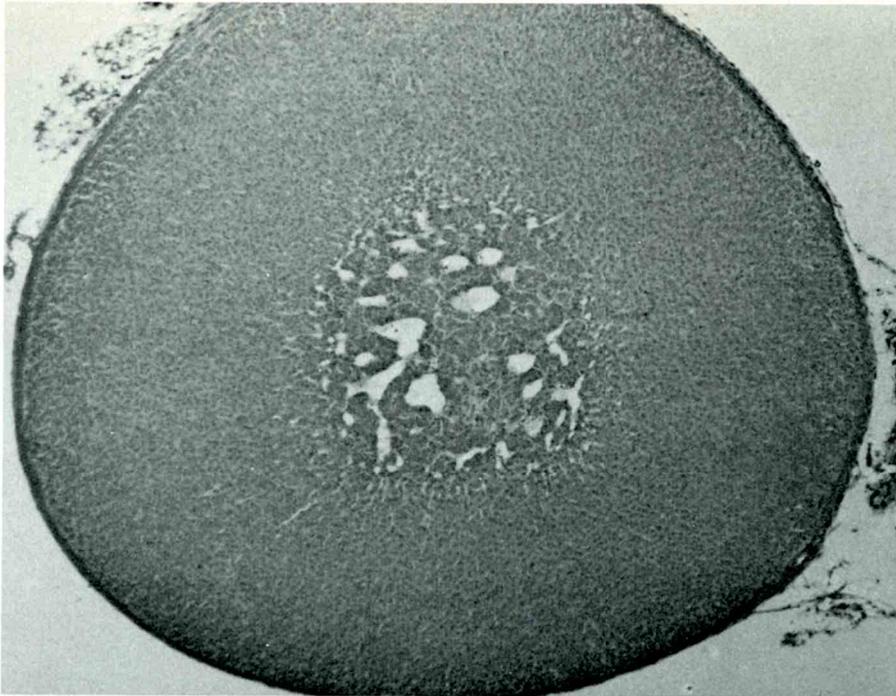
Aber auch nach der Bildung der synap-



**Bild 9:** Das Wachstum der Nervenfasern (des Axons) eines unreifen sympathischen Neurons wird vom Nervenwachstumsfaktor ausgelöst und geführt. Die Zellen des vom sympathischen Neuron innervierten Zielgewebes scheiden kleine Mengen des Nervenwachstumsfaktors aus (farbige Punkte). Der Faktor diffundiert zum Neuron und verbindet sich dort mit Rezeptormolekülen auf der Zelloberfläche (a).

Diese Wechselwirkung löst in einer noch unbekanntem Weise im Neuron den Zusammenschluß faseriger Proteine aus, die als Mikrotubuli und Mikrofilamente sichtbar werden und wichtige Bestandteile der Wachstumszone des Axons sind (b). Wenn das Axon sein Zielgewebe erreicht hat (c), bilden sich Synapsen, in denen das Nervensignal durch Moleküle (Neurotransmitter) vom Ende der Nervenfasern auf die

Zellen des Zielgewebes übertragen wird. Durch das ausgewachsene Axon strömt weiterhin Nervenwachstumsfaktor aus dem Zielgewebe zum Zellkörper des Neurons. Unterbricht man diesen Strom, indem man das Axon durchtrennt, die Synapse mit 6-Hydroxydopamin zerstört oder den Substanzfluß im Axon mit Vinblastin unterbindet, so degeneriert das sympathische Neuron (d).



**Bild 10:** Der Nervenwachstumsfaktor verwandelt Zellen der Nebennieren in sympathische Neurone, wenn er Ratten im Fetalstadium und nach der Geburt injiziert wird. Die Photographien zeigen Querschnitte durch die Nebennieren 2 Tage alter Ratten, die mit Kochsalzlösung (oben) und mit Nervenwachstumsfaktor (unten) behandelt wurden. Die normale Nebenniere besteht aus einer dichten Rinde (die im oberen Bild einige Zentimeter dick ist) und der zentralen, von Blutgefäßen durchsetzten Medulla. Die Behandlung mit Nervenwachstumsfaktor führt zu einer enormen Vergrößerung der Medulla, deren Zellen sich in sympathische Neurone umwandeln und eine große Menge sich stark verzweigender Fasern bilden. Diese Fasern ergeben ein mächtiges Bündel, das die Zellen der Rinde verdrängt, nach außen durchbricht und dort um das Organ herumwächst.

rotransmitter-Moleküle benötigten Substanzen liefert. Die Zellen bilden mehr Proteine und Fettstoffe, nehmen aus der Umgebung Aminosäuren auf und verbrauchen mehr Energie. Sehr bald nach der Bindung des Nervenwachstumsfaktors an seinen Rezeptor reorganisieren sich die Proteinbestandteile im Zytoplasma der Neurone. Faserige Strukturen – Mikrotubuli und Mikrofilamente –, die der wachsenden Zelle Halt geben, beginnen, den Raum zwischen Zellkern und Zellmembran zu füllen (Bild 9).

Interessanterweise können auch Nicht-Nervenzellen auf den Nervenwachstumsfaktor reagieren: Aus einem Rattentumor gewonnene Zellen des Stammes PC 12 bilden Fasern, werden elektrisch erregbar und können Neurotransmitter des Katecholamin-Typs speichern und ausschütten, wenn man sie mit dem Nervenwachstumsfaktor behandelt. Entfernt man den Faktor aus dem Kulturmedium, so ziehen die Zellen ihre Fasern zurück, verlieren die genannten, für sympathische Neurone kennzeichnenden Eigenschaften und vermehren sich wieder unreguliert.

Auch unreife chromaffine Zellen (Zellen, die sich mit Chrom-Salzen charakteristisch färben lassen) aus dem inneren Teil (der Medulla) der Nebennieren nehmen die biochemischen und morphologischen Eigenschaften sympathischer Neurone an, wenn sie mit dem Nervenwachstumsfaktor in Berührung kommen, und diese merkwürdige Umwandlung kann sogar im Körper lebender Tiere stattfinden (Bild 10): Die wiederholte Injektion von Nervenwachstumsfaktor in Rattenfeten bis zwei oder drei Wochen nach der Geburt führt zur Bildung sympathischer Neurone aus chromaffinen Zellen in den Nebennieren. Offenbar spielt der Nervenwachstumsfaktor in lebenden Organismen also eine wesentlich größere Rolle als bisher vermutet.

*Übersetzt von Jean Blondeau und Gabriele Kurz*

tischen Verbindungen scheint das Weiterleben der Nervenzellen in den Ganglien vom Nervenwachstumsfaktor abzuhängen, denn die Nervenfasern nehmen an ihren Enden Wachstumsfaktor auf und transportieren ihn zum Zellkörper. Verhindert man diesen Transport, indem man die Axone durchtrennt oder sie mit Vinblastin behandelt oder indem man mit 6-Hydroxydopamin die Nervenendigungen zerstört, so sterben die zugehörigen Neurone in den Ganglien ab. Der tödliche Effekt der Blockierung der Zufuhr von Nervenwachstumsfaktor verschwindet vollständig, wenn man die Neurone auf andere Weise mit dem Faktor versorgt. Untersuchungen in mehreren Laborato-

rien haben gezeigt, daß der Nervenwachstumsfaktor seine Aktivität entfaltet, indem er mit Rezeptoren in Wechselwirkung tritt, die sich auf der Oberfläche der Zellmembran befinden. Die Bindung des Faktors an den Rezeptor löst eine Reihe biochemischer Vorgänge aus, die das Wachstum der Nervenfasern zur Folge haben. Auf diese Weise ist der Faktor selbst dann wirksam, wenn er nur in äußerst geringer Konzentration (etwa 2,8 Mikrogramm pro Liter) vorliegt.

Unreife sympathische Neurone reagieren auf den Nervenwachstumsfaktor mit einer Verstärkung ihres Stoffwechsels, der die für das Wachstum der Nervenfasern und die Herstellung der Neu-