

Topobiologie

Für wichtige biologische Vorgänge müssen die Wechselwirkungen zwischen Zellen von deren Ort im Organismus abhängen. Am auffallendsten zeigt sich dies beim Heranwachsen eines Embryos. Das Studium solcher topobiologischer Beziehungen hat überraschende Einsichten in den Ursprung des Immunsystems gebracht.

Von Gerald M. Edelman

Eine tief befriedigende Erfahrung in der Wissenschaft ist, daß einmal aufgenommene Forschungsfahrten immer wieder auf gänzlich unerahntes Terrain führen. So kann ein groß angelegtes Untersuchungsprogramm plötzlich die Lösung eines alten Rätsels in einem weit entfernt scheinenden Forschungsfeld bieten. Eben solch eine unerwartete Querverbindung hat sich vor kurzem zwischen jenen beiden Gebieten der Biologie ergeben, die im Mittelpunkt meiner Forscherlaufbahn standen.

Das erste ist die Immunologie – speziell die Erforschung des räumlichen Baus der Antikörper: jener Spürhundermoleküle der Immunabwehr, die Eindringlinge erkennen und ihre Zerstörung veranlassen. Meine Untersuchungen hier gipfelten Ende der sechziger Jahre in der Aufklärung der hochkomplizierten Struktur dieser Immunglobuline.

Anfang der siebziger Jahre erwies sich dann, daß Antikörper stammesgeschichtlich mit anderen Immunabwehrmolekülen verwandt sind und eine gemeinsame Gruppe mit ihnen bilden: die sogenannte Immunglobulin-Superfamilie. Dies war zweifellos eine bedeutende Entdeckung; dennoch faszinierte sie mich nicht mehr so, wie das noch einige Jahre zuvor der Fall gewesen wäre. Inzwischen nämlich interessierte ich mich für ein anderes Problem: Wie stimmen sich Zellen in einem heranwachsenden Embryo so miteinander ab, daß sich die hochorganisierte Struktur eines Lebewesens herausbildet?

Die neuen Arbeiten führten zur Entdeckung der Zelladhäsionsmoleküle, kurz CAMs (nach englisch *cell adhesion molecules*). Dabei handelt es sich

um Proteine, welche die Wechselwirkung zwischen den Zellen eines Embryos vermitteln. Die an ihnen und verwandten Molekülen jüngst gewonnenen Erkenntnisse haben den Grundstein zu einer Molekular-Embryologie gelegt, welche die Brücke schlägt von der Ge-

stalt und Funktion embryonaler Moleküle zu ihrer Evolution und Genetik. Im wesentlichen handelt der vorliegende Artikel von diesen neuen Einsichten.

Zum Schluß aber werde ich den Bogen zu meinen früheren Arbeiten spannen. Denn der Zufall wollte es, daß die

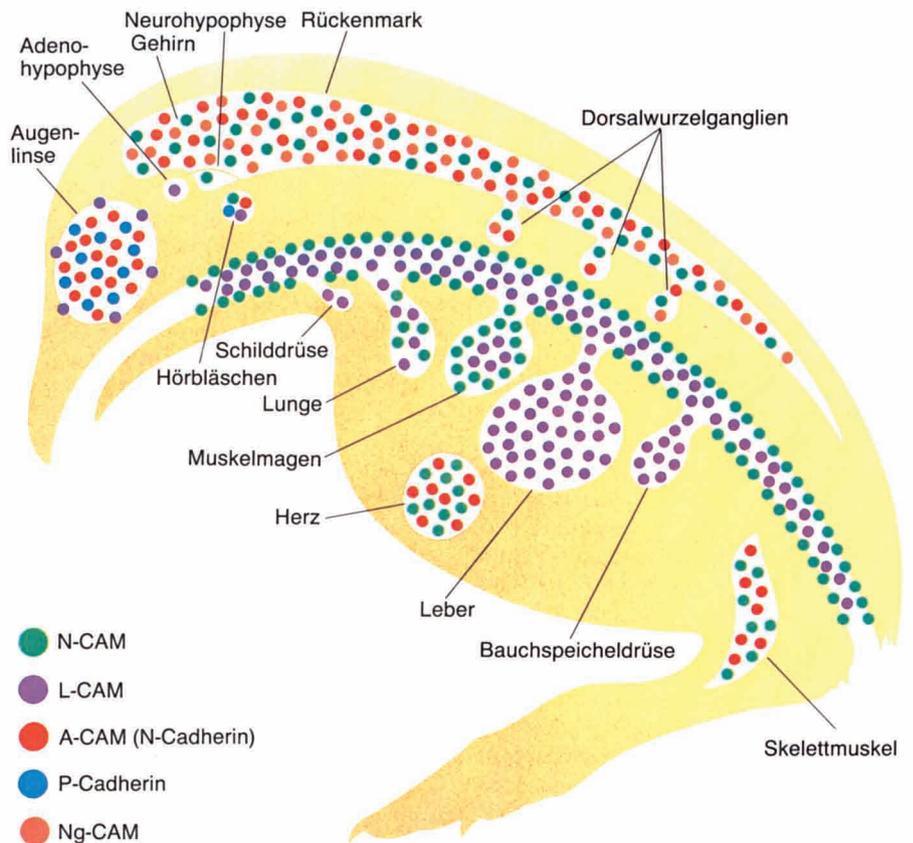


Bild 1: Die Verteilung von fünf Zelladhäsionsmolekülen (CAMs) in einem Hühnerembryo kurz vor dem Schlüpfen zeigt, daß diese an der Gestaltbildung beteiligt sind. Die CAMs unter-

scheiden sich in ihren Bindungsspezifitäten. Ihre Verteilung ändert sich mit der Zeit: Anfangs überlappen sich die Bereiche und überdecken fast die gesamte abgebildete Fläche.

Entdeckung und Erforschung der CAMs den lange Zeit rätselhaften Ursprung der Immunglobulin-Superfamilie geklärt hat. Wie sich kürzlich herausstellte, weisen CAMs und Immunglobuline so viele Gemeinsamkeiten in der Reihenfolge ihrer Aminosäuren sowie den DNA-Sequenzen ihrer Gene auf, daß eine entwicklungsgeschichtliche Verwandtschaft zwischen ihnen bestehen muß.

Welcher Art sie ist, beleuchtet ein lange bekannter Sachverhalt: Während die CAMs im gesamten Tierreich weit verbreitet sind, ist das adaptive Immunsystem, das Eindringlinge mit gegen sie speziell maßgeschneiderten Waffen bekämpft, auf die Wirbeltiere beschränkt. Vermutlich sind die Moleküle des Immunsystems also in einem bemerkenswerten Akt evolutionärer Ökonomie aus den Genen des Zelladhäsionsystems hervorgegangen.

Adhäsionsmoleküle

Antikörper wie CAMs entfalten ihre Wirkung hauptsächlich auf der Zelloberfläche. Wechselwirkungen zwischen Zelloberflächen können markante Änderungen in der Genexpression sowie der Form, Bewegung und Funktion der beteiligten Zellen hervorrufen. Dabei hängt der Effekt im Einzelfall auch von der Vorgeschichte der Zellen ab, das heißt von früheren Wechselwirkungen mit anderen Zellen. Weil diese Kontakte aber jeweils mit den umgebenden Nachbarzellen stattfinden, verhalten sich Zellen je nach ihrer Position im Organismus anders.

Solche positionsabhängigen Wechselwirkungen gibt es bei der Immunabwehr, eine besonders wichtige Rolle aber spielen sie im Verlauf der Embryonalentwicklung. Hier wird das Schicksal einer Zelle – ihre Funktion im ausgewachsenen Organismus – entscheidend dadurch bestimmt, an welchem Ort oder inmitten welcher anderen Zellen sie sich im Embryo befindet.

Diese Vorstellungen sind Embryologen nicht neu. Dennoch schien es mir erforderlich, die grundlegende Idee auf den Begriff zu bringen und den Umstand, daß der Ort einer Zelle ein kritischer Faktor für ihr weiteres Schicksal ist, durch einen besonderen Namen zu betonen. Daher prägte ich für diese ortsabhängigen dynamischen Wechselwirkungen an der Zelloberfläche, die der Zellregulation dienen, vor zwei Jahren den Ausdruck Topobiologie (nach griechisch *topos*, Ort).

Wie die Entdeckung der CAMs klar machte, ist einer der Schlüsselfaktoren, die den Ort einer Embryonalzelle (und

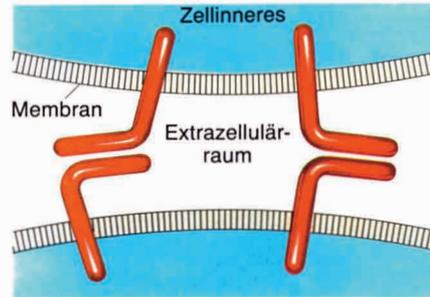
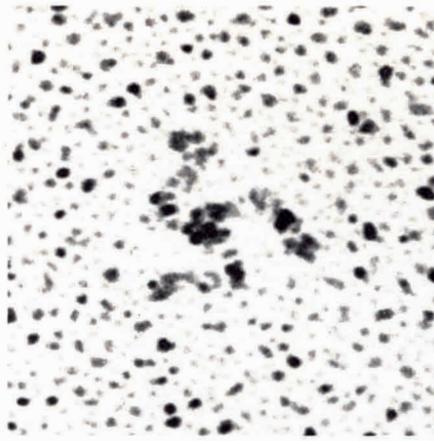


Bild 2: CAMs verkoppeln Zellen durch homophile Bindung: Gleichartige CAMs auf gegenüberliegenden Zelloberflächen heften sich aneinander (unten). Die elektronenmikroskopischen Aufnahme (oben) von CAMs nach Schrägbedampfen mit Platin zeigt drei neurale Zelladhäsionsmoleküle (N-CAMs), die an der Stelle aneinanderhängen, die normalerweise aus der Zellmembran vorsteht. CAMs scheinen lineare Moleküle zu sein, die um eine Art Gelenk abknicken können. Die Zeichnung zeigt zwei denkbare Arten, auf die das Gelenk eine homophile Bindung ermöglichen könnte.

damit letztlich die Form und das Verteilungsmuster der Gewebe) festlegen, die Gegenwart von Zelladhäsionsmolekülen. In den letzten Jahren wurden mehrere Familien von Substanzen gefunden, die ein Aneinanderhaften von Zellen und die damit verbundenen Wechselwirkungen vermitteln (siehe meinen Artikel „Zelladhäsionsmoleküle und embryonale Musterbildung“, Spektrum der Wissenschaft, Juni 1984). Außer den CAMs selbst gehören dazu vor allem die Substratadhäsionsmoleküle (SAMs) und die Zellkontaktmoleküle (CJMs nach englisch *cell-junctional molecules*).

Während sich die CAMs immer auf der Zelloberfläche befinden und die interzelluläre Wechselwirkung vermitteln, werden die SAMs von den Zellen abgegeben und bilden einen Bestandteil des verschlungenen Zwischenzellgerüsts (auch Extrazellulärmatrix genannt), an das sich Zellen manchmal heften. CJMs schließlich dienen zur Bildung komplexer Strukturen, über die

sich Zellen zu kompakten Gewebeverbänden zusammenschließen und zu denen die geschlossenen und offenen Zellkontakte (*tight* und *gap junctions*) sowie die Desmosomen (*adherens junctions*) gehören.

Alle bislang bekannten CAMs, SAMs und CJMs sind kompliziert aufgebaute Proteine, doch bei einigen hat man die Struktur schon recht detailliert aufgeklärt. Das Hauptaugenmerk richtet sich nun auf die genaue Funktion der einzelnen Adhäsionsmoleküle im Embryo und das mögliche Wechselspiel zwischen ihnen.

Es wurde bereits nachgewiesen, daß fast alle bekannten CAMs untereinander Bindungen eingehen (man spricht von Homophilie): Ein CAM auf einer Zelle lagert sich an ein gleichartiges auf einer gegenüberliegenden Zelle an (Bild 2). Dennoch unterscheiden sich die CAMs in ihrer Bindungsspezifität und im Ausmaß, in dem sie bei der Bindungsbildung auf die Mitwirkung von Ionen (etwa Calcium-Ionen) angewiesen sind.

Wie aus lockeren dichte Zellverbände werden

Ein Vorgang, der die Embryonalentwicklung leitmotivisch durchzieht, ist die Umwandlung von Epithel- in Mesenchymgewebe und umgekehrt. Ein Mesenchym ist ein Verband aus lose zusammenhängenden oder wandernden Zellen ohne feste räumliche Struktur; dagegen besteht ein Epithel aus einer äußerst regelmäßig aufgebauten dünnen Zellschicht, deren Unterseite oft mit dem Zwischenzellgerüst verbunden ist. Diese Anbindung erfolgt über SAMs, während den Zusammenhalt der Epithelzellen untereinander oft Kontaktstrukturen vermitteln, die aus verschiedenen CJMs aufgebaut sind.

Da der Übergang von der einen Gewebestruktur zur anderen so grundlegende Bedeutung in der Embryonalentwicklung hat, wäre es natürlich interessant zu wissen, welches dieser Moleküle die Umwandlung von Mesenchymgewebe in eine Epithelschicht auslöst. Nach neueren Untersuchungen in meinem Laboratorium spielen CAMs diese Auslöserrolle und ermöglichen durch ihre Verknüpfung erst die Bildung von Kontaktstrukturen wie *gap junctions* und Desmosomen.

Dies konnten wir nachweisen, indem wir mittels einer sogenannten Transfektion CAM-Gene in Zellen einer Gewebekultur einschleusten, denen diese Gene normalerweise fehlen (Bild 3). Dabei verwendeten wir DNA jener beiden Arten von CAMs, die zuerst ent-

deckt worden waren und die nach den Geweben, aus denen man sie erstmals isoliert hatte, neurale CAMs (N-CAMs) und Leber-CAMs (L-CAMs) heißen. Wie man inzwischen weiß, kommen sie jedoch auch in vielen anderen embryonalen Geweben vor.

Vor der Übertragung von L-CAM-DNA waren die Zellen in der Kultur unverbunden und glichen einem Mesenchym. Danach aber lagerten sie sich zu einer Schicht zusammen, die typische Merkmale eines Epithels aufwies: Die Zellen der Schicht bildeten untereinander *gap junctions* und Desmosomen. Wahrscheinlich veranlassen CAMs also vorhandene CJs dazu, sich zu Kontaktstrukturen zusammenzuschließen. Überdies zerfiel die Schicht wieder, und die Zahl der Kontaktstellen ging stark zurück, wenn Antikörperfragmente gegen L-CAM zugegeben wurden, welche die typische homophile Bindung zwischen Molekülen dieser Art blockieren.

Solche Befunde lassen bereits die Bedeutung der CAMs für die Embryonalentwicklung erahnen. Beim Heranwachsen eines Embryos spielen außer der wechselseitigen Umwandlung von Epithel und Mesenchym ineinander aber noch andere Prozesse eine fundamentale Rolle – beispielsweise gezielte Gewebewanderungen und die Bildung neuer Gewebegrenzen. All diese Vorgänge tragen zum Gesamtprozeß der Morphogenese bei: der Entstehung abgegrenzter, spezialisierter Organe und Gewebe im tierischen Organismus. Die besondere Rolle der CAMs bei dieser räumlichen Differenzierung erhellt daraus, daß CAMs mit unterschiedlicher Bindungsspezifität ungleich verteilt sind: in charakteristischen Mustern, die sich im heranwachsenden Embryo in Raum und Zeit entfalten (Bild 1).

Eine durch CAMs vermittelte Signalschleife

Ein ausgezeichnetes Beispiel für solche topobiologischen Prozesse bietet die Bildung von Federn. Dies ist ein kritischer Entwicklungsschritt des Vogelembryos, in dessen Verlauf in koordinierter Weise Zellen wandern, sich teilen und zusammenlagern sowie differenzieren und auch in bestimmten Mustern absterben. In der Anfangsphase spielen dabei Wechselwirkungen zwischen zwei Arten embryonalen Gewebes, dem Mesoderm und dem Ektoderm, eine entscheidende Rolle. (Aus dem Mesoderm gehen die meisten Knochen und Muskeln, aus dem Ektoderm dagegen das Nervensystem und die Haut hervor.)

In einigen Bereichen des heranwachsenden Hühnerembryos liegt nun eine Schicht spezialisierten Ektodermalgewebes – die sogenannte Epidermis oder Oberhaut – über mesodermalen Geweben. Im ersten Schritt der Federbildung werden in der Epidermis sogenannte Federkeime angelegt, aus denen später die Federn hervorgehen. Das Entstehen der Federkeime erfordert den Austausch eines komplizierten Musters chemischer Signale zwischen Mesoderm und Ektoderm – man spricht von embryonaler Induktion. Die Effizienz dieses Signalaustausches hängt ihrerseits von der Aktivität bestimmter CAMs ab, die sich an Laborkulturen embryonalen Hautgewebes näher untersuchen läßt.

Jüngst in meinem Labor durchgeführte Experimente beleuchten den Zusammenhang zwischen CAM-Bindung und embryonaler Induktion. Vereinfacht gesagt, waren die Experimente darauf angelegt, die homophile Bindung der CAMs aneinander zu stören und zu sehen, wie sich das auf die komplizierte Geometrie der Federkeime auswirkt.

Normalerweise entspringen die werdenden Federkeime an der Mittelachse des Embryos und bilden, während sie sich zur Seite hin ausbreiten, ein hexagonales Muster. Dieses Wabenmuster zeigt sich sowohl in den Plakoden, den Vorläufern der Federkeime, als auch in den Verdichtungen der darunterliegenden mesodermalen Zellen, welche das Signal zur Induktion der Plakoden ausstrahlen.

Bei unserem Experiment nutzten wir aus, daß die Zellen der epidermalen Plakoden durch L-CAM verknüpft sind, aber kein N-CAM enthalten, während für die mesodermalen Verdichtungen genau das Umgekehrte gilt. Nach unserer Vorstellung sollte für die Ausbildung des richtigen Musters eine von CAMs erzeugte Signalschleife erforderlich sein; darin würden Signale nicht nur vom Mesoderm zur Epidermis übermittelt, sondern auch in der Gegenrichtung.

Wir setzten der Kultur also Antikörper gegen L-CAM zu. Diese konnten nur die Bindungen zwischen Epidermiszellen beeinträchtigen, nicht aber die innerhalb der mesodermalen Verdichtungen. Gleichwohl änderte sich nach Zugabe der Antikörper auch das Muster dieser Verdichtungen (Bild 5).

Demnach läßt sich die für die Musterbildung nötige Signalschleife durch Blockieren der CAM-Bindung in nur einer Schicht stören. Entweder reagieren also die Epidermiszellen nicht mehr richtig auf von unten kommende Signale, oder sie geben selbst falsche oder gar keine Signale nach unten ab.

Die Wirkung des Eingriffs ist überdies von Dauer. Auch nach Auswaschen der Antikörper und zehntägigem Weiterzüchten der betreffenden Zellen blieb das Muster der Federentwicklung gravierend gestört. Wie diese Experimente demonstrieren, hängt die korrekte Musterbildung entscheidend von dem Wechselspiel zwischen CAM-Bindung und den Reaktionen der Zellen auf induzierende Signale ab.

Die Federbildung

Diese Wechselbeziehung behält auch bei der weiteren Federentwicklung ihre Bedeutung. Die fertige Feder ist ein kompliziertes Gebilde aus einem Schaft (Rhachis), von dem dünne Äste (Rami) abzweigen; seitlich an diesen sitzen wiederum noch dünnere Strahlen (Radii) und halten die Äste zusammen (Bild 4 oben). Alle Federkomponenten bestehen aus einem faserigen Protein, dem Keratin. Es wird von den Federzellen abgelagert, wenn sie am Ende der Federbildung absterben.

Die Äste und Strahlen, die zusammen die Federfahne bilden, entwickeln sich an der Innenseite der zylindrischen Federpapille aus längs verlaufenden Epithelleisten (Bild 4 unten). Diese schwellen an und schnüren sich schließlich ab. Eine besonders kräftige Leiste wird zum Schaft, auf den sich die anderen Leisten nacheinander verschieben und die Äste bilden; durch Abspaltung kleinerer Fasern von den Ästen entstehen schließlich die Strahlen.

Die Zellen der Epithelleisten gehen aus Vorläuferzellen hervor, von denen zunächst sowohl L-CAM als auch N-CAM gebildet wird. Im Verlauf der weiteren Entwicklung kommt es jedoch zu einer interessanten Differenzierung zwischen den Leisten und den Furchen dazwischen: Während die Leistenzellen allmählich die Produktion von N-CAM einstellen, exprimieren die Furchenzellen schließlich nur noch diesen CAM-Typ; zugleich vermehren sie sich und bilden dabei sogenannte Randplatten, welche die Leisten seitlich begrenzen (Bild 6).

Bald danach beginnen alle L-CAM exprimierenden Zellen Keratin zu produzieren, während die N-CAM bildenden absterben. Die Grenzen zwischen beiden werden dadurch zu Rändern neuer Strukturen: der Äste und Strahlen der Federfahne.

Somit kann die spezifische Expression von CAMs in Verbindung mit Zelldifferenzierung und -tod eine Morphogenese bewirken. Das heißt freilich nicht, daß CAMs die einzigen gestaltregulierenden Moleküle seien. An einem

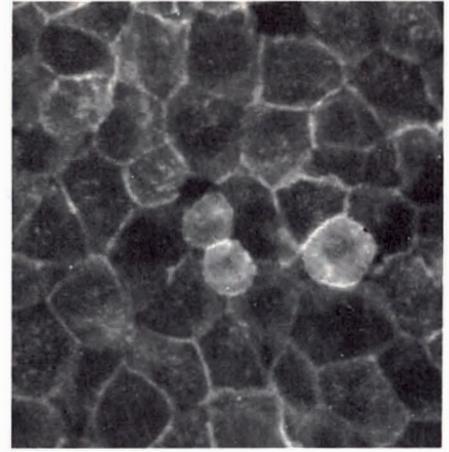
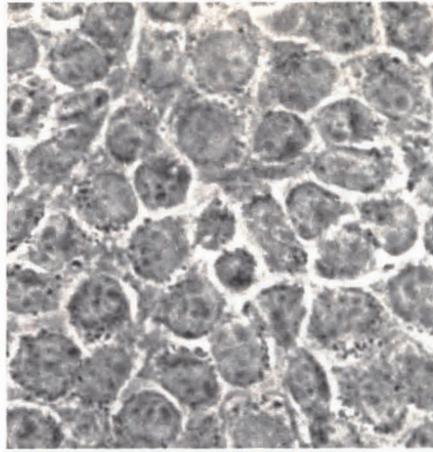
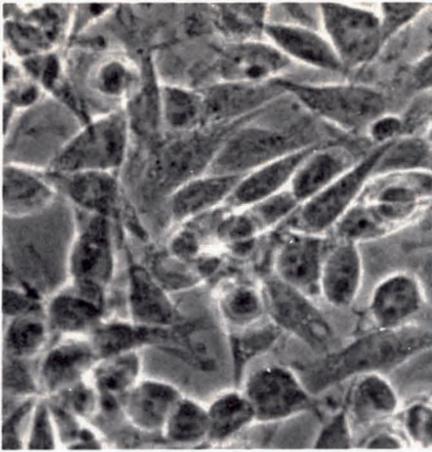


Bild 3: Wie diese lichtmikroskopischen Aufnahmen aus dem Laboratorium des Autors demonstrieren, verändern CAMs die innere Struktur von Zellverbänden. In Kultur gezüchtete Zellen, denen das Gen für das Leber-Zelladhäsionsmolekül (L-CAM) fehlt, bilden lockere Ansammlungen ähnlich dem Mesenchym von Embryos (links). Nach Einschleu-

sen und Aktivieren des L-CAM-Gens schließen sich die Zellen zu einem regelmäßigeren Verband zusammen, der an Epithelgewebe erinnert (Mitte). Mit Fluoreszenz-Farbstoffen markierte Antikörper gegen CAMs lassen die Ränder der Zellen hell aufleuchten (rechts), was beweist, daß die L-CAMs getreu ihrem Namen auf der Zelloberfläche sitzen.

gerade in meinem Laboratorium untersuchten anderen Entwicklungsvorgang läßt sich erkennen, wie auch SAMs Musterbildungen im Embryo beeinflussen können.

Wegweiser für wandernde Zellen

Dabei geht es um eine Gruppe von Zellen, welche die Dorsalwurzelganglien hervorbringen: Nervenknoten in den Wirbelkörpern, die im ausgewachsenen Organismus jeweils paarweise von den Hinterhörnern des Rückenmarks ausgehen. Die Wirbelkörper selbst entwickeln sich aus mesodermalem Gewebe, das sich zunächst in Somiten (Ursegmente) unterteilt. (Außer den Wirbelkörpern stammen weitere Gewebe von den Somiten ab – so das Mesenchym, aus dem bei Vögeln die erwähnten mesodermalen Verdichtungen der Federn hervorgehen.) Die Dorsalwurzelganglien leiten sich dagegen von ektodermalen Zellen ab, die aus der Neuralleiste entspringen und in Form eines Mesenchyms auf Wanderschaft gehen.

Damit sich die Ganglien richtig anordnen, dürfen die Neuralleistenzellen nur in den mesenchymalen Abschnitt des Somiten (das Sklerotom) an dessen Vorderseite einwandern. Wie werden die Zellen dorthin geleitet?

In früheren Untersuchungen hatte Jean-Paul Thiery vom französischen Nationalen Forschungszentrum in Paris bereits gezeigt, daß sie von Fibronectin und anderen Molekülen gebildete Bahnen als Leitschienen benutzen. Fibronectin aber ist ein Substratadhäsionsmolekül.

Ferner hatten meine Mitarbeiter und ich festgestellt, daß ein anderes SAM

namens Cytotactin während der Embryonalentwicklung ein charakteristisches Verteilungsmuster aufweist. Cytotactin vermag sich sowohl an Fibronectin als auch an ein drittes SAM zu binden: das cytotactin-bindende Proteoglykan (CTBP). Es schien nun lohnend herauszufinden, ob denn nicht vielleicht ein Zusammenhang zwischen der Verteilung der drei SAMs in den Somiten und jenem Muster bestünde, das die Neuralleistenzellen auf ihrer Wanderung ins Sklerotom erzeugen.

Wir untersuchten also die Verteilung der drei SAMs während der Invasion der Neuralleistenzellen in die Somiten. Zu Beginn der Embryonalentwicklung ist sie noch völlig gleichförmig, doch allmählich taucht ein räumlich-periodisches Muster auf: Während das Fibronectin weiterhin mehr oder weniger regelmäßig über den gesamten Somiten verteilt ist, häuft sich in dessen Vorderabschnitt Cytotactin und später hinten CTBP an. Obwohl dies gerade dann geschieht, wenn die Neuralleistenzellen ins Sklerotom einwandern, stammen die SAMs nicht von diesen, sondern von Somitenzellen.

In separaten Experimenten versuchten wir die genauen Einzelwirkungen der verschiedenen SAMs auf die Gestalt und Bewegung von Zellen aufzuklären. Untersuchungen an Zellkulturen ergaben, daß Cytotactin und CTBP Nervenzellen jene etwas rundere Form annehmen lassen, die sie typischerweise haben, wenn sie nicht wandern. Insbesondere dringen solche abgerundeten Zellen auch nicht in Gewebe ein, die SAMs enthalten. Dagegen haben Neuralleistenzellen auf einem reinen Fibronectingerüst eine flachere Form und sind zugleich ausgesprochen wanderlustig, während Zellen auf Mischungen

aus Fibronectin und einem der anderen beiden SAMs eine gemäßigte Wandertendenz zeigen.

Wenn auch die Details noch zu klären sind, so läßt sich aus diesen Befunden zumindest der allgemeine Schluß ziehen, daß sich die einzelnen SAMs je nach ihrem Mischungsverhältnis zu Netzwerken verbinden, die das Verhalten und speziell die Wandertendenz embryonaler Zellen unterschiedlich beeinflussen können.

Interessanterweise sind solche durch SAMs vermittelten Vorgänge topobiologisch mit der Expression von CAMs gekoppelt: Bei wandernden Neuralleistenzellen verschwinden die N-CAMs von der Oberfläche, tauchen aber nach der Kontaktaufnahme mit dem Somiten wieder auf – auch die meisten voll ausgereiften, ausdifferenzierten Nervenzellen sind damit besetzt. Offensichtlich sind CAMs und SAMs im Entwicklungsprozeß eng verzahnt und wirken auf komplexe Weise bei der Ausdifferenzierung der Gewebe zusammen. Ich habe ja schon erwähnt, daß Zellen vermutlich über CAMs miteinander verknüpft sein müssen, bevor CJs Kontaktstrukturen zwischen ihnen bilden können. Generell scheint die Embryonalentwicklung also durch vielfältige Abhängigkeiten zwischen diesen drei Klassen morphoregulatorischer Proteine geprägt zu sein.

Die Morphoregulator-Hypothese

So komplex dieses Wirkgefüge auch sein mag, kann es allein dennoch nicht erklären, wie sich der Embryo entwickelt. Die Ausdifferenzierung embryonaler Gewebe erfordert den Übergang zur Produktion gewebespezifischer

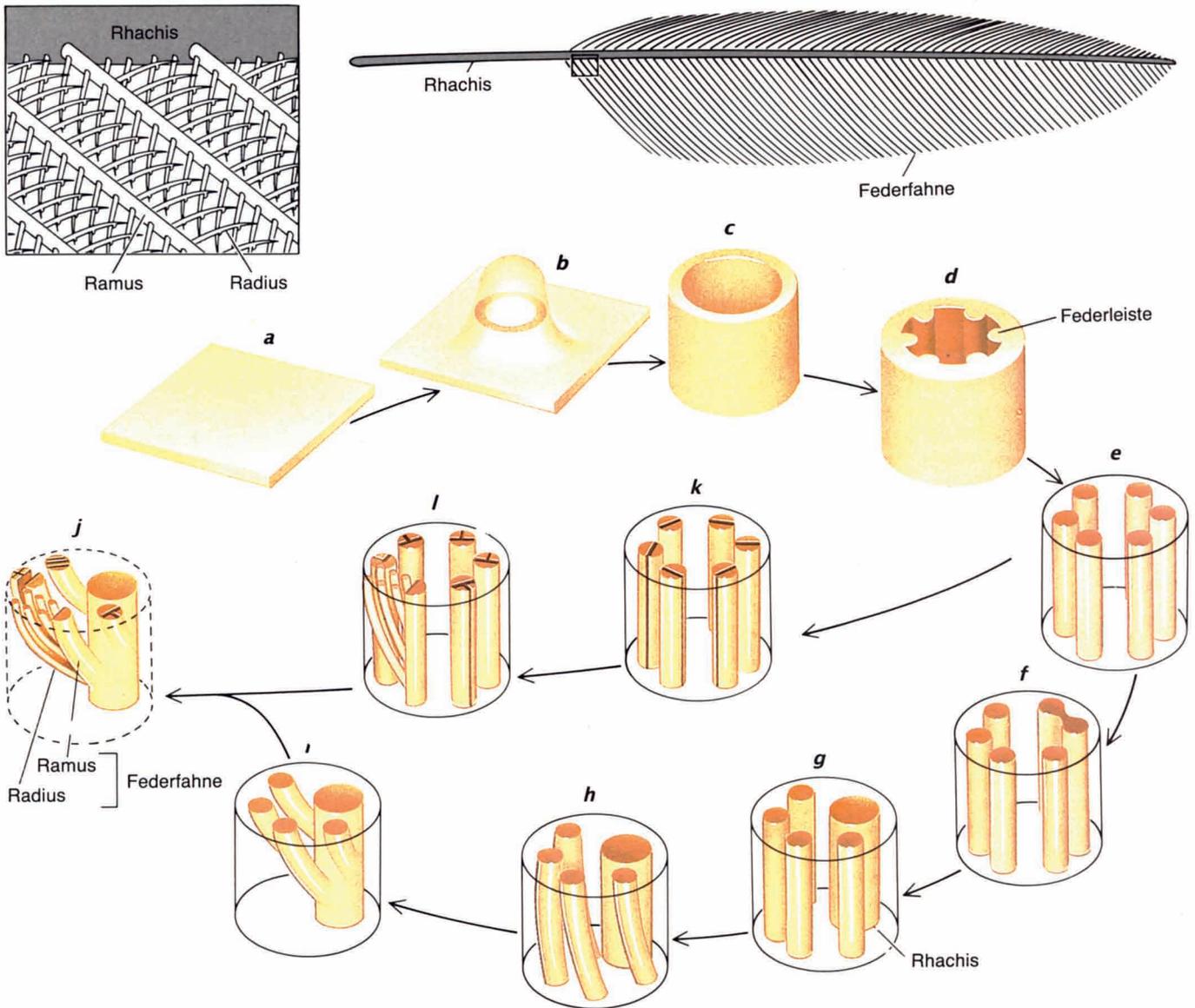


Bild 4: Federn bilden sich aus Vorläuferstrukturen, die Plakoden heißen. Zu Beginn wandern mesodermale Mesenchymzellen unter eine epidermale Schicht (a). Die entstehende mesodermale Verdichtung sendet Signale nach oben, welche die Bildung der Plakoden auslösen. Dabei wölbt sich

die epidermale Schicht auf, und die entstehende Knospe (b) verlängert sich zu einer zylindrischen Faser (c). Darin entwickeln sich längs verlaufende Federleisten (d), die sich abschnüren und unterteilen und so schließlich die stark verzweigte Struktur fertiger Federn ergeben (e bis l).

Proteine: also von Leberproteinen in Leberzellen, Muskelproteinen in Muskelzellen und so weiter. Die Gene, die den Bauplan für diese Proteine enthalten, haben mit denen für Zelladhäsionsmoleküle nichts gemeinsam. Dennoch hängt die Aktivität beider Genklassen miteinander zusammen. Den sie verbindenden Kreislauf beschreibt die von mir aufgestellte Morphoregulator-Hypothese (Bild 7).

Demnach werden Zellen über die zyklisch schwankende Expression von CAMs und durch SAM-Netzwerke mechanochemisch gesteuert. Dies läßt sich beispielsweise daran verdeutlichen, wie die Bindung an bestimmte SAMs die Gestalt und Wandertendenz von Neuralleistenzellen beeinflusst. Die Expression von CAM- und SAM-Genen steuert die

Bildung von Zellverbänden, die an einer bestimmten Stelle Signale miteinander austauschen, und ändert dadurch sowohl die Gestalt der jeweiligen Zellen als auch ihre Reaktion auf ankommende Signalmuster. Auf diese Weise beeinflusst sie auch die Expression anderer Gene – einschließlich solcher, die für gewebespezifische Proteine codieren.

Als topobiologische Grunderkenntnis läßt sich also festhalten: Die Wechselwirkung von Zelloberflächen steuert die mechanochemischen Triebkräfte und schafft dabei Zellverbände, deren Signalmuster durch den Zusammenschluß ebenso verändert wird wie ihr Differenzierungszustand. Diese Modulation des Zellzustands durch CAMs und SAMs muß eine entscheidende Rol-

le bei der Herausbildung der Körperform und der Entwicklung von Gewebemustern im Tierreich spielen.

Genetische Untersuchungen

Die Morphoregulator-Hypothese nun lenkte mein Interesse und das meiner Mitarbeiter auf die Gene, die für die morphoregulatorischen Moleküle – speziell die CAMs – codieren. Bruce A. Cunningham und ich ermittelten den Aufbau der Gene für N-CAM und L-CAM, indem wir die zugehörigen DNA-Sequenzen bestimmten. Demnach sind N-CAM und L-CAM jeweils in nur einem Gen verschlüsselt, und die beiden Gene weichen in ihrem Aufbau relativ stark voneinander ab. Die beiden

CAMs sind daher wohl stammesgeschichtlich nicht sehr eng miteinander verwandt.

Die Gene für L-CAM und N-CAM unterscheiden sich unter anderem in der Art, wie daraus die fertige Bauvorschrift für das Protein erzeugt wird. Fast alle Säugergene bestehen aus einem Gemisch von codierenden DNA-Abschnitten (sogenannten Exons) und nicht codierenden Sequenzen (Introns). Nach der Transkription – dem Umschreiben – des Gens in RNA (Ribonucleinsäure) werden die nicht codierenden Abschnitte entfernt und die codierenden zur fertigen Boten-RNA (mRNA) zusammengefügt oder – so der Fachbegriff – gespleißt. Manchmal können durch unterschiedliches Spleißen mRNA-Vorlagen für verschiedene Proteine entstehen.

Dies ist beim N-CAM der Fall: Seine mindestens 19 Exons lassen sich auf mehrere verschiedene Arten zusammenfügen, und einige der resultierenden CAMs unterscheiden sich etwas in der Region, mit der sie sich an die Zellmembran heften (Bild 8). Dies beeinflusst möglicherweise die Stärke der Bindungen, die sie untereinander und mit dem internen Zellgerüst (Cytoskelett) bilden. Obwohl das L-CAM-Gen auch eine Reihe von Exons enthält, gibt es bei ihm keinen Hinweis auf divergierendes Spleißen.

Um keine Mißverständnisse aufkommen zu lassen: Die Art des Spleißens beeinflusst nur die Bindungsstärke, nicht aber die Bindungsspezifität der N-CAMs; denn Unterschiede in der Anheftung an die Zellmembran wirken sich ausschließlich auf die Anzahl und Anordnung der CAMs auf der Zelloberfläche und damit auf die Effizienz der Gesamtbindung aus. Dies paßt gut zu der Vorstellung, daß es vielleicht nicht mehr als etwa ein Dutzend CAMs mit unterschiedlicher Bindungsspezifität gibt, die jeweils jedoch ein breites Spektrum von Bindungsstärken aufweisen. Das Ergebnis ist ein höchst nuanciertes Bindungsverhalten.

Inzwischen sind einige weitere Mitglieder der kleinen CAM-Familie entdeckt worden. Bald nachdem Cunningham und ich unsere Ergebnisse veröffentlicht hatten, lieferten mehrere Untersuchungen Hinweise auf Ähnlichkeiten zwischen N-CAM und einem anderen Protein aus Nervengewebe: dem myelin-assoziierten Glykoprotein (MAG). Vermutlich handelt es sich dabei gleichfalls um ein Zelladhäsionsmolekül. Nach molekulargenetischen Untersuchungen, die Masatoshi Takeichi und seine Mitarbeiter später an der Universität Kioto durchführten, existiert eine weitere Gruppe von CAMs, die so-

genannten Cadherine. Sie ähneln in DNA-Sequenz und Struktur dem L-CAM, sind aber anders in den Embryonalgeweben verteilt.

Die Domänenhypothese

All diese Befunde zum Aufbau der CAM-Gene waren sehr interessant; am meisten überraschte aber wohl die Entdeckung struktureller Gemeinsamkeiten von N-CAM und Antikörpern (Bild 9). Als meine Mitarbeiter und ich 1969 erstmals die Aminosäuresequenz eines vollständigen Antikörper-Moleküls bestimmt hatten, kam eine Vielzahl sehr interessanter struktureller, genetischer und stammesgeschichtlicher Verwand-

schaftsbeziehungen zum Vorschein (siehe „Die Struktur und Funktion der Antikörper“ von Gerald M. Edelman in „Immunsystem“, Reihe „Verständliche Forschung“, Spektrum der Wissenschaft, Heidelberg 1987). Diese Beziehungen fanden ihren Ausdruck in der Domänen-Hypothese, wonach die Immunglobuline aus zwei Arten von strukturellen und funktionellen Untereinheiten (Domänen) bestehen, die jeweils rund 100 Aminosäuren lang sind: der variablen oder V-Domäne, die sich innerhalb einer Funktionsklasse von Molekül zu Molekül unterscheidet, und der konstanten oder C-Region, die das nicht tut.

Die für Antikörper charakteristische Y-Form ergibt sich aus der spezifischen

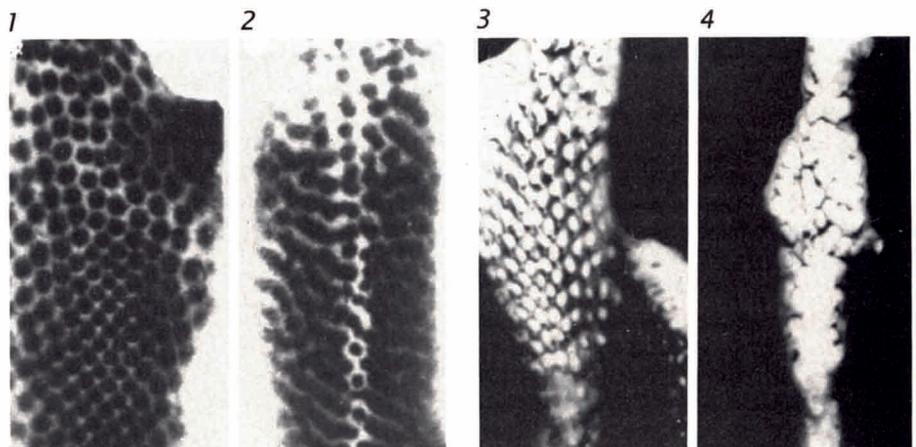


Bild 5: Störexperimente zeigen, daß Bindungen über CAMs für die Federbildung erforderlich sind. Während der Plakodenentwicklung bilden die darunterliegenden mesodermalen Zellen ein Wabenmuster (1) und dann eine noch kompliziertere Struktur (3). In Gegenwart von Antikörpern gegen L-CAM ist das Waben- zu einem Streifenmuster verzerrt (2),

und schließlich wird die ganze Struktur unförmig (4). Die Antikörper beeinträchtigen nur die (durch L-CAMs vermittelten) Bindungen zwischen epidermalen Zellen, nicht aber die (durch N-CAMs vermittelten) Bindungen zwischen mesodermalen Zellen. Da dennoch auch deren Muster gestört ist, muß eine Signalschleife zwischen beiden Geweben existieren.

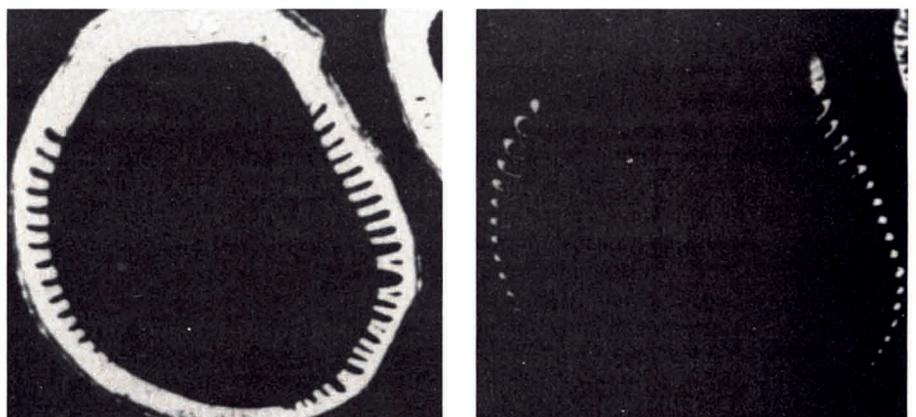


Bild 6: Ein komplementäres Muster aus L-CAMs und N-CAMs tritt während der Entwicklung der Federleisten auf. Die beiden Aufnahmen zeigen jeweils einen Querschnitt durch einen Federfollikel, der mit fluoreszierenden Antikörpern gegen ein bestimmtes

CAM gefärbt worden ist. L-CAM (links) verkoppelt die Leistenzellen, N-CAM (rechts) dagegen die Zellen in den Furchen dazwischen. Kurz nach diesem Stadium produzieren die Zellen mit L-CAM das Faserprotein Keratin, während die Zellen mit N-CAM absterben.

Verknüpfung von V- und C-Domänen. Jeder Antikörper besteht aus einem Paar sogenannter leichter Proteinketten, aufgebaut aus je einer variablen und einer konstanten Region, und einem Paar schwerer Ketten, die jeweils eine variable und drei konstante Regionen umfassen. Dabei sind die variablen Bereiche für die Bindung des Antigens zuständig, während die C-Regionen diverse Effektorfunktionen ausüben; beispielsweise veranlassen sie Freßzellen des Immunsystems (Makrophagen) dazu, ein an sie gebundenes Antigen zu verschlingen.

Interessanterweise haben alle Domänen der Antikörper-Moleküle (V und C) gewisse Gemeinsamkeiten in den Aminosäuresequenzen. Eine plausible Erklärung dafür ist, daß sie sämtlich aus einer einzigen Urdomäne hervorgegangen sind, deren Gen sich mehrfach verdoppelt hat.

Seit ihrer Formulierung im Jahre 1969 ist die Domänen-Hypothese vielfach bestätigt worden. Die von ihr postulierte Familie von Molekülen gleicher Abstammung hat sich sogar noch vergrößert: Hinzu kamen unter anderem die Rezeptoren für Wachstumsfaktoren sowie die sogenannten Histokom-

patibilitätsantigene, die für die Erkennung von Fremdstoffen durch das Immunsystem eine entscheidende Rolle spielen.

Diese ganze evolutionäre Sippe hat man Immunglobulin-Superfamilie genannt. Während ihre Mitglieder nach und nach bekannt wurden, stellte sich immer drängender die Frage, welches der gemeinsame Urahn war.

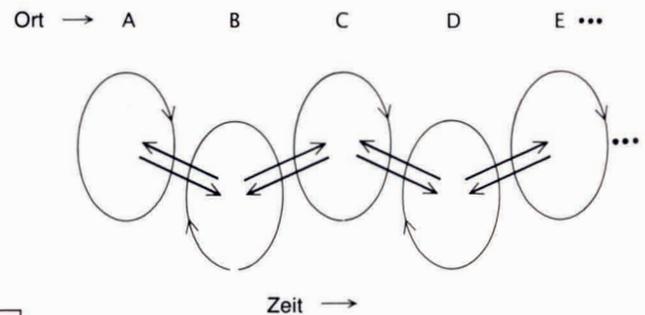
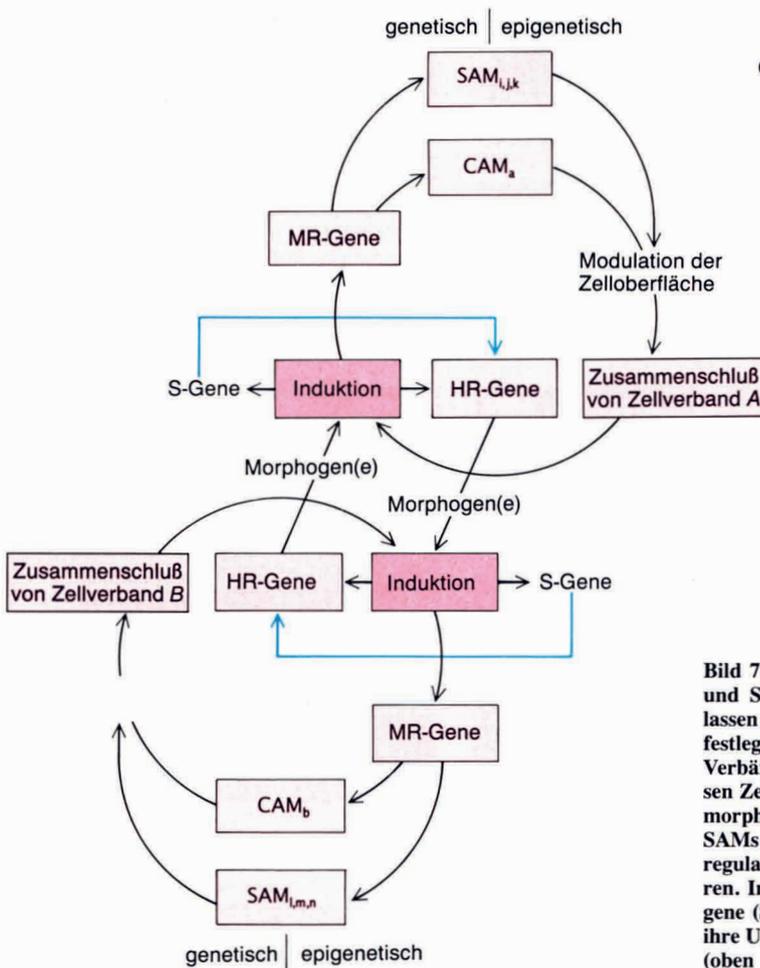
Der Ursprung der Immunglobulin-Superfamilie

Die Erkenntnis, daß auch das N-CAM mit diesen Molekülen verwandt ist, könnte eine Antwort liefern. Meiner Überzeugung nach ist das gesamte adaptive Immunsystem, dessen Bestandteile den Kern der heutigen Immunglobulin-Superfamilie ausmachen, aus einem älteren Zelladhäsionssystem hervorgegangen. Den Grundpfeiler dieser Überzeugung bildet die Tatsache, daß ein adaptives Immunsystem nur bei Wirbeltieren vorkommt und sich daher erst in einem späten Evolutionsstadium entwickelt hat, während das CAM-System anscheinend viel weiter im Tierreich verbreitet ist.

Neuere Beobachtungen stützen diese Ansicht. Thomas C. Kaufman und Mark Seeger von der Indiana-Universität in Bloomington haben im Antennapedia-Genkomplex der Taufliege *Drosophila melanogaster* eine DNA-Sequenz entdeckt, die zu einem etwa zweieinhalb Domänen umfassenden Abschnitt des N-CAM-Gens homolog ist und für ein Protein namens Amalgam codiert. Später zeigten Corey S. Goodman und seine Mitarbeiter an der Universität von Kalifornien in Berkeley, daß die Sequenz eines mutmaßlichen Zelladhäsionsmoleküls namens Fasciclin II, das sich auf Nervenzellen von *Drosophila* befindet, gleichfalls dem N-CAM-Gen ähnelt.

So etwas wie ein adaptives Immunsystem gibt es bei Taufliegen nicht. Daß Insekten also über N-CAM-artige Moleküle, aber nur Wirbeltiere über ein adaptives Immunsystem verfügen, spricht deutlich für meine Vermutung, daß die Moleküle des adaptiven Immunsystems aus CAM-Genen eines frühen gemeinsamen Vorfahren von Insekten und Wirbeltieren hervorgegangen sind.

Einige zusätzliche Tatsachen vervollständigen das Bild von der Evolution der Zelladhäsionsmoleküle und ihrer



zeitliche Verknüpfung von Zyklen durch Wanderung von Zellen und Zellschichten sowie durch Wachstum

Bild 7: Die Morphoregulator-Hypothese sucht zu erklären, wie CAMs und Substratadhäsionsmoleküle (SAMs) Zellansammlungen entstehen lassen und durch Wechselwirkung mit ihnen die Körperform der Tiere festlegen. In zyklischen CAM-Wirkketten (links) bilden durch CAMs zu Verbänden verknüpfte Zellen sogenannte Morphogene. Diese veranlassen Zellen, die durch andere CAMs verknüpft sind, die Aktivität ihrer morphoregulatorischen Gene (MR) – also der Gene für die CAMs und SAMs – zu ändern. Zugleich beeinflussen sie die Expression der historegulatorischen Gene (HR), die für gewebespezifische Proteine codieren. In manchen Zellen werden die HR-Gene ihrerseits durch Selektorgene (S) reguliert. Bei ihren Interaktionen verändern die Zellverbände ihre Umgebung; dadurch werden neue CAM-Kreisläufe in Gang gesetzt (oben rechts), die untereinander Signale austauschen (Doppelpfeile).

Abkömmlinge im Immunsystem, das eine befriedigende Erweiterung der Domänen-Hypothese darstellt. Im Unterschied zu den CAMs ist jedes Immunglobulin auf einer Vielzahl von Genen für V- und C-Regionen verschlüsselt, die durch Verdopplung aus einem Ur-gen hervorgegangen sind und sich bei den verschiedenen Wirbeltierfamilien ähneln. Eigentlich müßte die Homologie zwischen den Arten aber durch unabhängige Mutationen, die sich in den verschiedenen Genen ansammeln, verlorengegangen sein. Wodurch ist sie dennoch erhalten geblieben?

Bereits im Jahre 1969 schlugen mein Mitarbeiter Joseph A. Gally und ich eine „demokratische Gen-Umgestaltung“ als Erklärung vor. Die Einzelheiten dieses Mechanismus sprengen den Rahmen des vorliegenden Artikels; im Kern aber läuft er darauf hinaus, daß die Mitglieder einer Genfamilie derart miteinander rekombinieren (homologe DNA-Sequenzen austauschen), daß eine Koevolution möglich wird. Mehr noch: Die Familien können sogar als Mutationsverteilungsnetze wirken, die günstige Mutationen unter ihren Mitgliedern verbreiten.

Da eine für das adaptive Immunsystem der einen Tierart günstige Mutation wahrscheinlich auch einer anderen Art nützt, könnten solche Netze in Verbindung mit dem Selektionsdruck die Homologien in den Immunglobulin-Genfamilien erhalten helfen. Diese für die Antikörpergene entwickelte Idee gilt allgemein für die Evolution von Multigenfamilien.

Ein Musterbeispiel evolutionärer Ökonomie

Tatsächlich sind CAMs und Antikörper nach jüngsten Erkenntnissen auch funktionell verquickt: Verschiedene Lymphocyten, die zur Speerspitze des Immunsystems gehören, müssen sich an ihr Opfer anheften, um ihre Funktion auszuüben.

Timothy A. Springer von der Medizinischen Fakultät der Harvard-Universität in Cambridge (Massachusetts) hat kürzlich auf einer Vielzahl von Zellen ein Molekül namens I-CAM (interzelluläres CAM) entdeckt. Es ist homolog zum N-CAM und bindet sich laut Springer an ein als LFA-1 bezeichnetes Molekül auf der Oberfläche von Lymphocyten. Dieses ähnelt seinerseits Zelloberflächenmolekülen, die Integrine heißen und als Rezeptoren für SAMs dienen.

Das aus all diesen Mosaiksteinen sich abzeichnende Gesamtbild demonstriert in großartiger Weise, wie ökonomisch

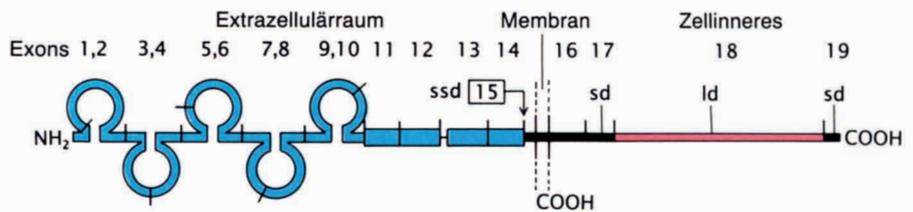


Bild 8: Der Aufbau von N-CAM wurde proteochemisch und durch Sequenzierung des N-CAM-Gens bestimmt. Es gibt verschiedene N-CAM-Varianten, die sich darin unterscheiden, wieviele Exons (codierende Abschnitte) des N-CAM-Gens für den Bauplan des Proteins verwendet werden. Inzwischen hat man noch

mehr als die hier aufgeführten 19 Exons entdeckt. Alle bekannten N-CAM-Varianten enthalten fünf durch Disulfidbrücken gebildete Schleifen (links). Drei Varianten sind hier gezeigt: *ssd* endet bei Exon 15 und hat keine Transmembrandomäne; *sd* enthält alle Exons außer 15 und 18 und *ld* alle außer 15 und 19.

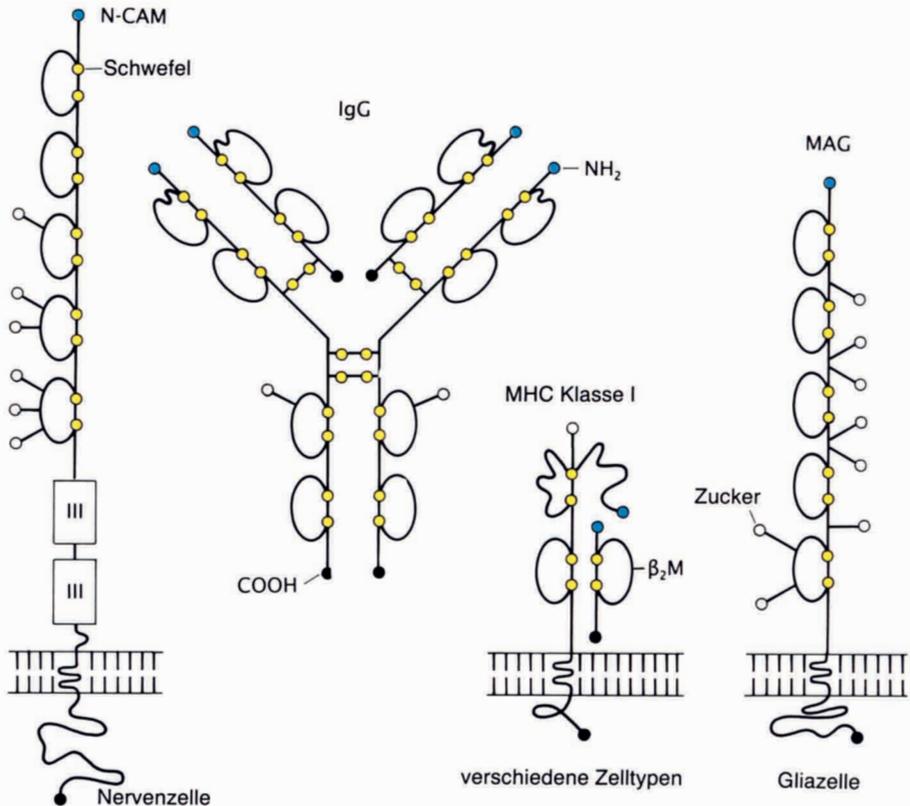


Bild 9: Die Immunglobulin-Superfamilie, zu der nach Untersuchungen des Autors nun auch die CAMs zu rechnen sind, besteht aus strukturell und funktionell recht verschiedenen Molekülen gleichen evolutionären Ursprungs. Alle sind aus mehreren Domänen aufgebaut. Das Antikörpermolekül (Immunglobulin G, IgG) zirkuliert in Körperflüssigkeiten und heftet sich an Fremdstoffen. MHC-Proteine der Klasse I sind Oberflächenbestandteile fast aller tierischen Zellen und verbinden sich mit

von der Zelle aufgearbeiteten Antigenen; erst so können bestimmte weiße Blutkörperchen, die T-Lymphocyten, die Antigene wirksam erkennen. Die leichte Kette der MHC-I-Proteine besteht nur aus einer Domäne, dem β_2 -Mikroglobulin. MAG ist ein mutmaßliches CAM, das in den Membranen von Gliazellen (nicht erregbaren Stützzellen des Nervensystems) vorkommt. Gliazellen (und MAG) spielen eine Rolle bei der Umhüllung der Fasern bestimmter Nervenzellen mit einer Myelinschicht.

die Evolution vorgeht (Bild 10). Den Ausgangspunkt bildete ein DNA-Abschnitt, der etwa halb so lang wie eine N-CAM-Domäne ist. Wie die Analyse des N-CAM-Gens verrät, entstanden durch zweimalige Verdopplung dieses Vorläufers die CAM-artigen Gene der gemeinsamen Vorfahren von Insekten und Wirbeltieren. Diesen wurden durch Umverteilen von Exons DNA-Regionen angefügt, die denen für SAMs

wie dem Fibronectin ähneln. Das Gen für N-CAM-artige Adhäsionsmoleküle wurde dann seinerseits verdoppelt und brachte so all die miteinander verwandten Typen von CAMs hervor – einschließlich derjenigen im Zentralnervensystem wie des MAG.

Diese Moleküle wurden sämtlich topobiologisch in der Morphogenese eingesetzt. Bei einem frühen Wirbeltier (oder seinem unmittelbaren Vorläufer)

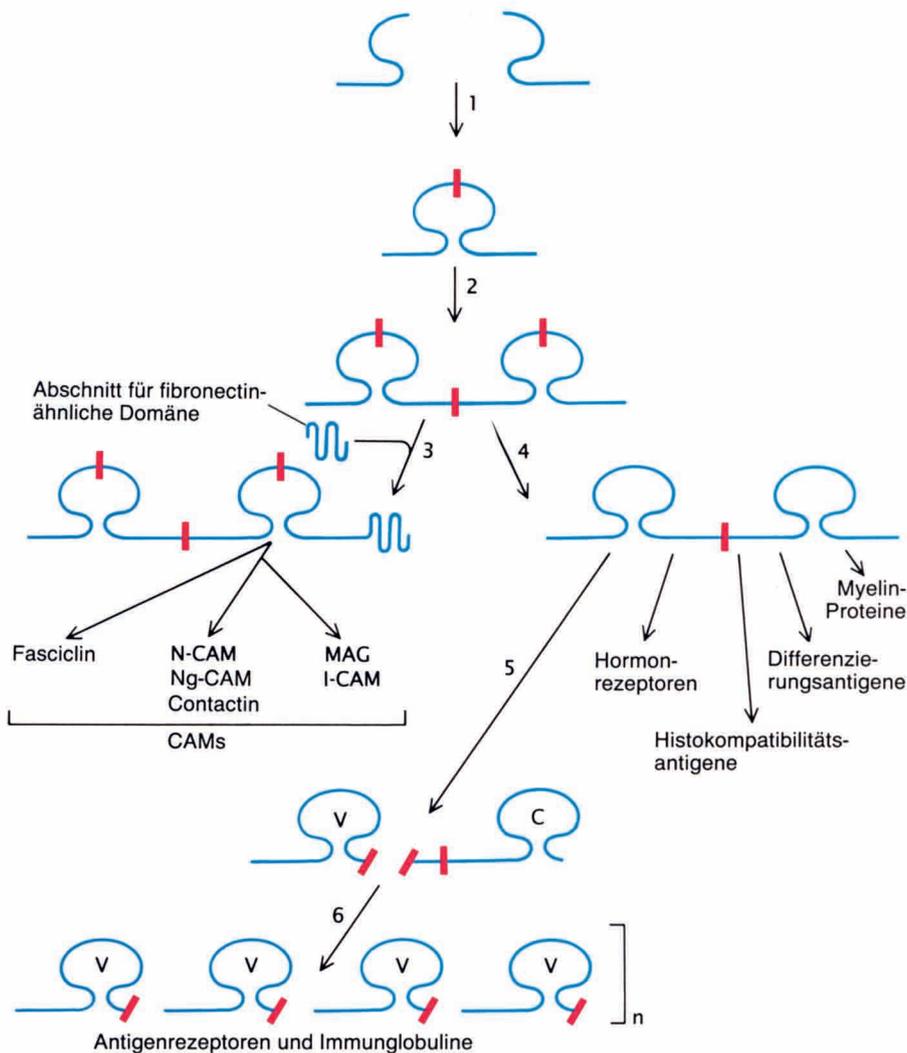


Bild 10: Evolutionsschema, das die Abstammung des adaptiven Immunsystems aus frühen CAMs illustriert. Durch Verknüpfung zweier Exons, die jeweils für eine halbe Domäne codierten, entstand das Gen für eine einzelne Domäne, der Funktionseinheit eines Proteins (1). Dessen Verdopplung lieferte dann das Gen für ein Mehrdomänen-Protein, ein frühes N-CAM (2). An dieses wurde in der einen Evolutionslinie durch Exon-Umverteilung ein Abschnitt für eine fibronectin-ähnliche Domäne angehängt (3). Aus dem Produkt bildeten sich durch weiteres Verdoppeln und Auffächern (Diversifikation) dann die Gene für die ver-

schiedenen CAMs. In der anderen Linie verloren die frühen N-CAM-Gene die Introns (nicht-codierenden Abschnitte, rote Balken) innerhalb der Domänen, aber nicht die dazwischen (4). Durch Auffächerung und Auseinanderentwicklung entstanden schließlich die anderen Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie. Der Einschub eines genetischen Elements (eventuell von einem Virus) ermöglichte die Protein-Diversifikation bei Lymphozyten (5). Parallel dazu nahm die Zahl variabler Regionen stark zu und lieferte so die Basis für die enorme Vielfalt von Antigen-Rezeptoren und Antikörpern, über die jedes Individuum verfügt.

übernahm ein Genprodukt dieser Familie jedoch eine ganz andere Aufgabe. Durch Verdopplung eines CAM-artigen DNA-Stücks bildeten sich die Gene für die V- und C-Regionen der Immunglobuline, die Rezeptoren bestimmter Lymphocyten und die Histokompatibilitätsantigene.

In der Folge verdoppelten sich die V-Gene häufig, so daß aus ihnen ganze Familien hervorgingen, deren Ähnlichkeit durch demokratische Gen-Umwandlung aufrechterhalten blieb. Analoge Umwandlungen vollzogen sich in der Histokompatibilitätsfamilie. CAMs wie das I-CAM entwickelten sich als

Anheftungspunkte für LFA-1, das sich unabhängig als Rezeptor auf Lymphocyten herausgebildet hatte.

Somit fußen Schlüsselfunktionen des adaptiven Immunsystems auf einem frühen Zelladhäsionssystem, das auf topobiologischem Wege die zur Gestaltbildung nötigen Zellbewegungen und Ausprägungen von Gewebemustern regulierte. Auch wenn Lymphocyten nichts mit Formbildung zu tun haben, beruht ihre Funktion doch auf kompliziert gesteuerten Interaktionen zwischen Zellen. Diese hängen ihrerseits von spezifischen Bindungsmechanismen ab, in denen sich der Ursprung des

adaptiven Immunsystems in der Zelladhäsion andeutet.

Alle Bindungsstellen von Immunglobulinen – und vermutlich auch die der CAMs – weisen eine besondere Art der Proteinfaltung auf: die sogenannte Beta-Faltblattstruktur. Dabei lagern sich drei Abschnitte der Proteinkette zu einer Art gewelltem Blatt zusammen; in der Immunglobulin-Domäne liegen jeweils zwei solche Faltblätter sandwichartig übereinander. Das Beta-Faltblatt könnte somit Grundelement einer urtümlichen, an das adaptive Immunsystem weitervererbten Sprache zur Bindung und Regulation von Zellen sein.

Die Wechselwirkung zwischen Antikörper und Antigen, die im Reagenzglas in einer Flüssigkeit absolut positionsunabhängig ablaufen kann, wird oft als typisch für die Funktionsweise des gesamten Immunsystems angesehen. Man darf aber nicht vergessen, daß das Immunsystem außer frei im Blut umhertreibenden Bestandteilen auch kompakte Gewebe umfaßt (wie etwa die Lymphknoten). Außerdem gibt es auch unter den frei zirkulierenden Lymphocyten Populationen, die sich bevorzugt in bestimmten Körpergeweben aufhalten.

Schließlich dürfte, obwohl im Reagenzglas auch einzelne Zellen eine Immunreaktion eingehen, bei der gesamten Immunantwort die Position sehr wohl ebenso entscheidend sein wie bei der Morphogenese. Immerhin hat die Erforschung der morphoregulatorischen Moleküle und der Immunglobuline ihre tiefreichende Beziehung in genetischer und evolutionärer Hinsicht enthüllt.

Gestatten Sie mir noch eine letzte Bemerkung über die Wege der Forschung. Die Idee einer Verbindung zwischen CAMs und Molekülen des Immunsystems hätte im engen Rahmen einer einzelnen wissenschaftlichen Spezialdisziplin nicht gedeihen können. Ihre Ausgestaltung erforderte, einer vagen Vermutung über einen weiten Forschungsweg (das Studium der CAMs) bis zur Lösung eines Problems (des Ursprungs der Immunglobuline) nachzugehen, das sich am Ende eines scheinbar nicht verwandten Forschungsprojektes stellte. Innerhalb der Grenzen eines Fachgebietes wie der Immunologie oder der Embryologie wäre dieser Gedankengang wohl verkümmert. Nur wer die Biologie aus der umfassenden Perspektive von Evolution, Genetik und Individualentwicklung betrachtet, kann beim Verfolgen seiner speziellen Forschungsziele zunächst beziehungslos scheinende Sachverhalte zu einem organischen, intellektuell befriedigenden Ganzen zusammenschließen.