

Michael Wegner

Institut für Biochemie, Emil-Fischer-Zentrum,
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen Nürnberg

Steuerung der Entwicklung des Nervensystems durch SoX-Proteine



Steuerung der Entwicklung des Nervensystems durch Sox-Proteine

Michael Wegner

Institut für Biochemie, Emil-Fischer-Zentrum, Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen Nürnberg

Zusammenfassung

Um zu verstehen, wie die Entwicklung des Nervensystems und die Entstehung einzelner Zelltypen aus neuralen Stammzellen reguliert werden, untersuchen wir die Wirkweise von Transkriptionsfaktoren der Sox-Familie. Wir konnten zeigen, dass Stammzellen des zentralen und des peripheren Nervensystems durch Sox9 und Sox10 dazu gebracht werden, sich zu Gliazellen zu entwickeln. In den entstehenden Gliazellen übernehmen Sox9 und Sox10 zusätzliche Aufgaben bei nachfolgenden Entwicklungsschritten und der Ausreifung. Dabei wird ihre Aktivität durch weitere Sox-Proteine der jeweiligen Entwicklungssituation angepasst. Demnach sollte es möglich sein, über Sox-Proteine gezielt auf die Entwicklung einzelner Zelltypen des Nervensystems zu therapeutischen Zwecken Einfluss zu nehmen. In jedem Fall lassen sich aber durch unsere Befunde die molekularen Ursachen von Erkrankungen erklären, die durch Sox-Gendefekte verursacht werden.

Meine Arbeitsgruppe erforscht, wie die Entwicklung neuraler Stammzellen zu den verschiedenen Nerven- und Gliazellen gesteuert wird, die dann in ihrer Summe das funktionierende Nervensystem ausmachen. Ob eine neurale Stammzelle sich selbst erneuert oder sich dazu entschließt, sich zu einer Nervenzelle oder einer Gliazelle zu entwickeln, wird nicht zuletzt durch die in der Zelle vorhandenen Transkriptionsfaktoren bestimmt. Denn Transkriptionsfaktoren entscheiden darüber, welche Gene in der Zelle abgelesen werden und in welchem Umfang von diesen Genen Proteine hergestellt werden. Die Gesamtheit der in einer Zelle vorkommenden Proteine ist für Entwicklungsweg und Identität einer Zelle verantwortlich.

Unter den Transkriptionsfaktoren mit Bedeutung für die Zellentwicklung im Nervensystem interessieren wir uns besonders für die Sox-Proteine, von denen es beim Menschen und in anderen Säugetieren jeweils 20 verschiedene gibt. Nahezu alle diese Sox-Proteine kommen im sich entwickelnden Nervensystem vor. In großen

Mengen finden sich die drei nahe miteinander verwandten Sox-Proteine Sox8, Sox9 und Sox10.

Um die Bedeutung dieser Sox-Proteine für die Entwicklung des Nervensystems zu bestimmen, haben wir Mausmodelle generiert, in denen Sox-Gene fehlen, so dass folglich die entsprechenden Sox-Proteine nicht mehr hergestellt werden können.

Fehlt Sox10 in der Maus, so können im gesamten peripheren Nervensystem keine Gliazellen mehr gebildet werden (Abbildung 1). Im zentralen Nervensystem ist hingegen nur ein einzelner Typ von Gliazelle in seiner Entwicklung von Sox10 abhängig. In Abwesenheit von Sox10 können die Oligodendrozyten nicht ausreifen, die normalerweise die Markscheiden bilden und für die Isolierung der Nervenfasern benötigt werden. Folglich unterbleibt die Bildung der Markscheiden. Weitere Störungen in der Mausmutante betreffen die Nebenniere, das gesamte Nervensystem des Darms und die Pigment-bildenden Zellen der Haut. Ein Teil der Entwicklungsstörungen ist bereits dann erkennbar, wenn Sox10 nicht vollständig fehlt, sondern nur in seiner Menge reduziert ist. Ähnliche Entwicklungsstörungen findet man auch in Patienten mit Mutationen im Sox10-Gen. Beim Menschen äußern sich Sox10-Mutationen als Pigmentierungsstörungen, teilweiser Verlust des Darmnervensystems, periphere Neuropathien und zentralnervöse Leukodystrophien in komplexen Krankheitsbildern, die als Waardenburg-Hirschsprung-Erkrankung bzw. als PCWH-Syndrom bezeichnet werden.

Auch das Entfernen des verwandten Sox9-Gens führt in Mensch und Maus zu erheblichen Entwicklungsdefekten. Wir konnten zeigen, dass im Zentralnervensystem ohne Sox9 ein Defekt in der Stammzellentwicklung auftritt. Statt zunächst Nervenzellen und dann Gliazellen zu erzeugen, bilden die Stammzellen nur noch Nervenzellen. Sie verlieren also ihre Fähigkeit, zwischen verschiedenen Entwicklungswegen zu entscheiden. Damit hört die Bedeutung von Sox9 im zentralen Nervensystem aber nicht auf. Wenn man, wie wir es getan haben, Sox9 erst dann entfernt, wenn die Stammzellen bereits Gliazellen gebildet haben, so stellt man fest, dass die noch nicht ausgereiften Oligodendrozyten nur dann überlebensfähig sind, wenn sie entweder Sox9 oder Sox10 besitzen. Fehlen beide Sox-Proteine, kommt es zu einem vermehrten Absterben der Oligodendrozyten, da die Zellen nun nicht mehr in der Lage sind, das ihnen als Überlebenssignal zur Verfügung gestellte PDGF zu erkennen.

Im Vergleich zu Sox9 und Sox10 spielt Sox8 nur eine untergeordnete Rolle in der Entwicklung des Nervensystems. Selbst in Abwesenheit von Sox8 entwickelt sich das Nervensystem in der Maus weitgehend normal. Dass Sox8 aber nicht vollkommen ohne Einfluß auf die Entwicklung des Nervensystems ist, ließ sich daraus erkennen, dass die Kombination des Sox8-Verlusts mit einer Reduktion der vorhandenen Sox9- oder Sox10-Menge in der Maus zu Entwicklungsstörungen führte, die in den einzelnen Mausmutanten nicht erkennbar waren.

Unser derzeitigen Untersuchungen sind vor allen Dingen darauf gerichtet, genau zu bestimmen, welche Gene in Abhängigkeit von Sox8, Sox9 und Sox10 in Zellen des Nervensystems vermehrt abgelesen werden, um so ein besseres Verständnis der molekularen Wirkweise dieser Sox-Proteine zu erlangen. Ebenso gilt zu klären, wie es möglich ist, dass die genannten Sox-Proteine in verschiedenen Zellen des peripheren und zentralen Nervensystems zu unterschiedlichen Zeitpunkten ihrer Entwicklung jeweils andere Funktionen wahrnehmen können. Unter anderem wird dies dadurch erreicht, dass sich Sox-Proteine mit weiteren Transkriptionsfaktoren zusammenschließen und ihre Aktivität durch diese Transkriptionsfaktoren verändern lassen. So wird die Aktivität von Sox10 durch die entfernt verwandten Sox5- und Sox6-Proteine in den Oligodendrozyten des Zentralnervensystems so angepasst, dass die Ausreifung dieser Gliazellen nicht zu früh erfolgt (Abbildung 2). Ähnliches gilt auch für die Aktivität von Sox9 in neuralen Stammzellen.

Wir erhoffen uns durch diese Studien nicht nur ein besseres Verständnis der molekularen Ursachen seltener genetischer Erkrankungen wie der Waardenburg-Hirschsprung-Erkrankung und des PCWH-Syndroms im Fall von Sox10. Wir sind darüber hinaus auch der Überzeugung, dass ein detailliertes Verständnis der Entwicklung einzelner Zelltypen im Nervensystem und der zugrunde liegenden Regulationsprozesse zukünftig eine gezielte Einflussnahme erlauben sollte und deshalb therapeutisches Potenzial besitzt.

Abbildung 1: Entwicklung des peripheren Nervensystems in Abwesenheit von Sox10. Während sich im peripheren Nervensystem (SG = Spinalganglion, SN = Spinalnerv) einer normalen Maus (Wildtyp) Nervenzellen (grün) und Gliazellen (rot) bilden, sind in Abwesenheit von Sox10 (Sox10-defizient) im peripheren Nervensystem nur Nervenzellen vorhanden. Die Entwicklung des Zentralnervensystems (ZNS) ist zu diesem Zeitpunkt unverändert. Die Analyse erfolgt durch Immunhistochemie.

Gliazellen wurden mit anti-B-FABP Antikörpern markiert, Nervenzellen mit anti-Tuj1 Antikörpern.

Abbildung 2: Entwicklung der Oligodendrozyten im Zentralnervensystem in Abwesenheit von Sox5 und Sox6. Zum Zeitpunkt der Geburt finden sich im Rückenmark der Maus in Abwesenheit von Sox5 und Sox6 (Sox5/Sox6-defizient) viel mehr differenzierte Oligodendrozyten als in der normalen Maus (Wildtyp). Der Nachweis erfolgte über In-Situ-Hybridisierung mit einer gegen PLP gerichteten RNA-Sonde.

Literatur:

- Britsch S, Goerich DE, Riethmacher D, Peirano RI, Rossner M, Nave KA, Birchmeier C, Wegner M (2001) The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. *Genes Dev* 15:66-78.
- Finzsch M, Stolt CC, Lommes P, Wegner M (2008) Sox9 and Sox10 influence survival and migration of oligodendrocyte precursors in the spinal cord by regulating PDGF receptor α expression. *Development* 135:637-646.
- Inoue K, Khajavi M, Ohyama T, Hirabayashi S-i, Wilson J, Reggin JD, Mancias P, Butler IJ, Wilkinson MF, Wegner M, Lupski JR (2004) Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat Genet* 36:361-369.
- Stolt CC, Lommes P, Friedrich RP, Wegner M (2004) Transcription factors Sox8 and Sox10 perform non-equivalent roles during oligodendrocyte development despite functional redundancy. *Development* 131:2349-2358.
- Stolt CC, Lommes P, Sock E, Chaboissier M-C, Schedl A, Wegner M (2003) The Sox9 transcription factor determines glial fate choice in the developing spinal cord. *Genes Dev* 17:1677-1689.
- Stolt CC, Rehberg S, Ader M, Lommes P, Riethmacher D, Schachner M, Bartsch U, Wegner M (2002) Terminal differentiation of myelin-forming oligodendrocytes depends on the transcription factor Sox10. *Genes Dev* 16:165-170.
- Stolt CC, Schlierf A, Lommes P, Hillgärtner S, Werner T, Kosian T, Sock E, Kessar N, Richardson WD, Lefebvre V, Wegner M (2006) Sox10 proteins influence

multiple stages of oligodendrocyte development and modulate SoxE protein function. Dev Cell 11:697-710.

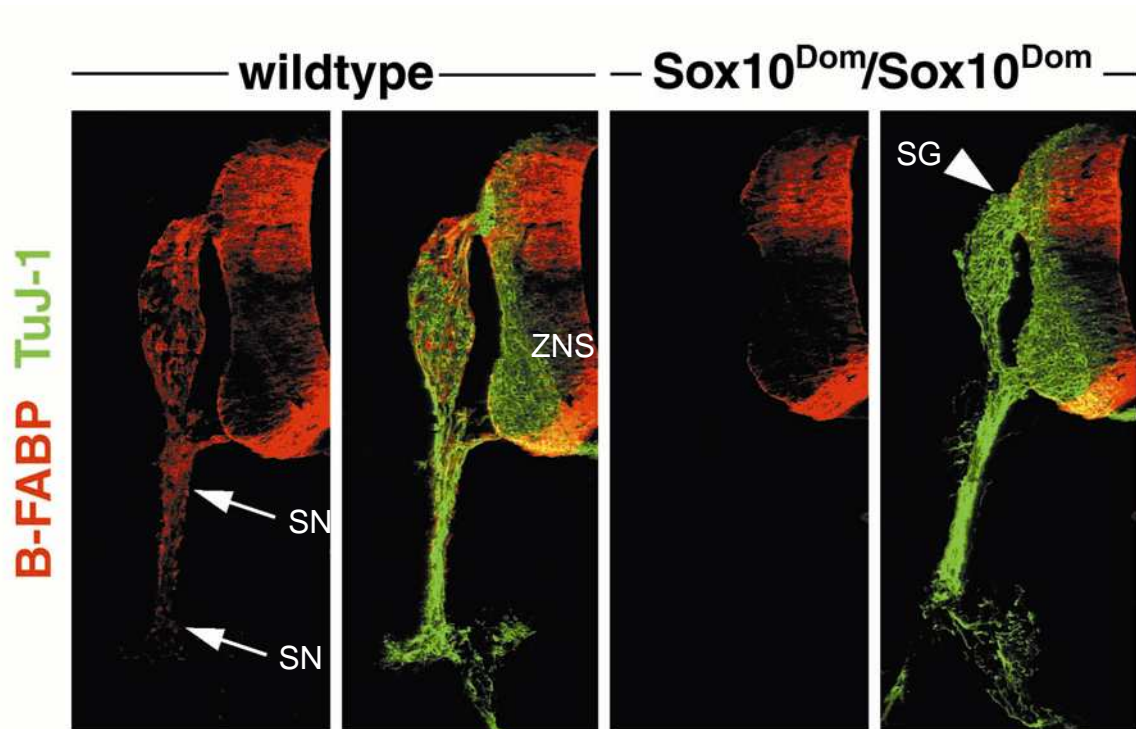


Abbildung 1

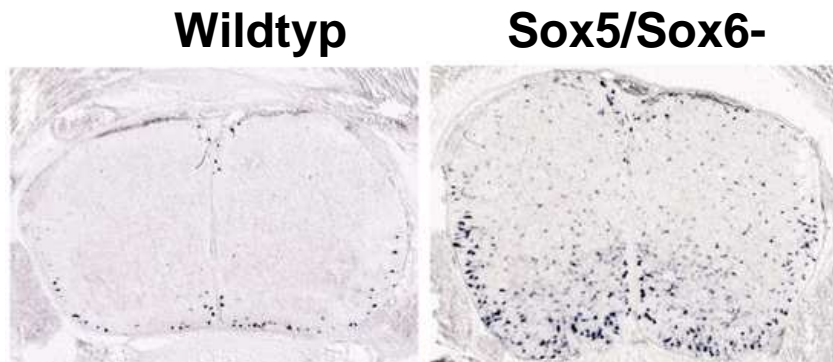


Abbildung 2