

Elti Hoxha

Dr. med.

Rolle des Transkriptionsfaktors Foxb1 in der Entwicklung von Neuronen und Gliazellen im Thalamus in der Maus

Fach/Einrichtung: Anatomie und Zellbiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Joachim Kirsch

Einleitung: Der Transkriptionsfaktor Foxb1 gehört zur Familie der Forkhead-Box-Proteine, welche durch eine konservierte und aus etwa 100 Aminosäuren bestehende DNA-Bindungsdomäne charakterisiert sind. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Entwicklung des zentralen Nervensystems. So wird *Foxb1* bereits bei E9.5 im Mittelhirn und Diencephalon exprimiert. *Foxb1*-Knockout-Mäuse zeichnen sich unter anderem durch eine erhöhte postnatale Mortalität, ein vermindertes Wachstum, motorische Schwäche sowie Störungen bei Gedächtnis- und Lernprozessen aus. Der mediale Mammillarkörper ist nicht ausgebildet und auch der mammillothalamische Trakt erreicht bei diesen Mutanten den Thalamus nicht. Die das Neuralrohr auskleidenden neuroepithelialen Zellen stellen die Stammzellen des zentralen Nervensystems dar. Das Diencephalon entwickelt sich aus dem Prosencephalonbläschen und lässt sich unterteilen in Thalamus, Epithalamus, Subthalamus und Hypothalamus.

Fragestellung: Da einige Zellen des Neuroepithels *Foxb1* exprimieren, während andere dies nicht tun, war die erste Fragestellung, welche zukünftigen Zellen und Strukturen des Diencephalons, und speziell des Thalamus, von diesen *Foxb1*-exprimierenden neuroepithelialen Zellen abstammen und damit der *Foxb1*-Zell-Linie angehören. Ferner war von Interesse, welche Zelltypen des Thalamus zur *Foxb1*-Zell-Linie gehören und wie sich die verschiedenen Zellpopulationen bei *Foxb1*^{-/-}-Mutanten im Vergleich zu den heterozygoten Mutanten verändern. Im Speziellen sollten Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten untersucht werden.

Methodik: Zur Untersuchung der *Foxb1*-Zell-Linie im Thalamus und Diencephalon habe ich mich der *Foxb1*^{Cre}-Mauslinie bedient, da in dieser die Cre-abhängige Expression von *Foxb1* detektierbar ist. Durch Injektion eines speziellen DNA-Plasmid-Konstruktes mit Flip-

Mechanismus in den dritten Ventrikel von Mäuse-Embryonen bei E12.5 und anschließender Transfektion der angrenzenden neuroepithelialen Zellen mittels *in utero*-Elektroporation konnte dann die *Foxb1*-Zell-Linie unter qualitativ-morphologischen Gesichtspunkten verfolgt werden. Die Analyse der Resultate erfolgte dabei zum Zeitpunkt E18.5. Zur Detektion der einzelnen Zelltypen hingegen wurden immunhistochemische Methoden an Hirnschnitten adulter Mäuse angewendet. Dabei wurden die Zelltyp-spezifischen Antigene mit dem *Foxb1*-Zelllinien-Marker hPLAP kolokalisiert und die Ergebnisse quantifiziert. Verglichen wurden dabei die Zellzahlen in den *Foxb1*^{+/-}-Mutanten mit denen in den *Foxb1*^{-/-}-Mutanten.

Ergebnisse: Mit dem Plasmid transfizierte Zellen ohne *Foxb1*-Expression zeigten eine grüne Fluoreszenz, Zellen der *Foxb1*-Zell-Linie hingegen eine durch den Flip-Mechanismus bedingte rote Fluoreszenz. Rote Fluoreszenz konnte im Thalamus, im Epithalamus und im Mammillarkörper des Hypothalamus nachgewiesen werden, nicht hingegen im Subthalamus und Cortex. Von den verschiedenen Zelltypen zeigten sowohl Neurone als auch Astrozyten und Oligodendrozyten eine Kolokalisation der jeweiligen Antigene und hPLAP. Die Anzahl der kolokalisierenden Neurone und Astrozyten nahm in den *Foxb1*^{-/-}-Mutanten signifikant ab, die Anzahl der kolokalisierenden Oligodendrozyten hingegen stieg.

Diskussion: *Foxb1* ist für die Entwicklung zahlreicher diencephaler Strukturen essentiell. Dazu gehören alle spezifischen und unspezifischen Thalamuskern, das Corpus geniculatum laterale sowie der Epithalamus. Auch der Mammillarkörper des Hypothalamus gehört der *Foxb1*-Zell-Linie an. Der ventrale Thalamus (Subthalamus) exprimiert kein *Foxb1*. Während der Embryogenese erstreckt sich die Zona limitans intrathalamica (ZLI) zwischen dem Prosomer 2 (p2), aus dem der Thalamus (dorsalis) hervorgeht, und dem Prosomer 3 (p3), der Vorläuferstruktur des Subthalamus. Die ZLI führt wohl als diencephales Organisationszentrum durch Sekretion von Morphogenen und Signalmolekülen dazu, dass die Expression von *Foxb1* im Thalamus gefördert und im ventralen Thalamus inhibiert wird. *Foxb1* scheint essentiell für die Differenzierung von neuronalen Progenitorzellen der *Foxb1*-Zell-Linie zu Neuronen und Astrozyten zu sein, während es die oligodendrozytäre Determination und Differenzierung hemmt. Bei den *Foxb1*^{-/-}-Mutanten nimmt die Anzahl der Oligodendrozyten zu, weil wahrscheinlich die frühe Differenzierung zu Neuronen und Astrozyten beeinträchtigt ist und damit mehr neurale Progenitorzellen für die erst zu einem späteren Zeitpunkt stattfindende Differenzierung zu Oligodendrozyten zur Verfügung stehen.