



Doctoral Thesis

Growth factor signaling in neural crest development

Author(s):

John, Nussy

Publication Date:

2009

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006016862> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 18710

GROWTH FACTOR SIGNALING IN NEURAL CREST DEVELOPMENT

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by

NESSY JOHN

Master of Science

Post Graduate Institute of Medical Education and Research

22.11.1980

citizen of India

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Lukas Sommer

Prof. Dr. Ueli Suter

Prof. Dr. Esther Stoeckli

Prof. Dr. David Wolfer

2009

1. Summary

The development of a multi-cellular organism requires orchestration between increase in body mass and the generation of a wide variety of cell types. This objective is attended by the stem cells in the body during both embryonic and postnatal stages. Such stem cells are able to generate either their own kind, in order to increase the body mass and/or they are able to generate one cell of their own kind and one committed progenitor/differentiated cell, thereby maintaining the stem cell pool and at the same time creating a variety of cell types. The mechanisms that regulate self-renewal and differentiation in stem cells are of major concern in cell and developmental biology. Such mechanistic understanding leads to better utilization of stem cells in both research and therapeutic approaches. In my thesis I have focused on the developmental aspect of neural crest stem cells. These stem cells are versatile in their potential and contribute to a wide variety of cell types including the skeletal components of the head and face. Molecular dissections of pathways that regulate lineage commitments and fate decisions in neural crest have captured a lot of attention.

In my thesis I have mainly elaborated a mechanism underlying the formation of a neural crest progenitor from a stem cell during development. Here, using ex vivo cultures I have identified a novel cranial neural crest progenitor in the pharyngeal apparatus of developing mouse embryos. Using self-renewal and differentiation assays, these cells are identified as committed progenitors with limited self-renewal potential and restricted differentiation potential. These fate-restricted

progenitors developed in the pharyngeal apparatus are capable of differentiating into ecto-mesenchymal lineages and not into neural lineages. Further, I have shown that transforming growth factor β 1 (Tgf β 1) induces the switch from neural crest stem to progenitor cell ex vivo. Tgf β 1 priming can alter the differentiation abilities of trunk neural crest stem cells by downregulating the transcription factor Sox10. Also notable is that the loss of Sox10 can suppress neural fates and promote ectomesenchymal fates in trunk neural crest. Thus, I have shown here the role of Tgf β -mediated Sox10 suppression in neural crest cells that further dictates selective fates during development.

Later in my thesis I have also briefly elaborated the significance of Insulin-like growth factor1 (Igf1) signaling in neural crest cells during mouse embryonic development. Conditional ablation of the gene encoding type I Igf1 receptor in neural crest did not indicate any striking phenotypical change. The mutant embryos were born but faced an immediate respiratory arrest and turned cyanotic. Gross analysis indicated that migration, proliferation and differentiation of neural crest were not affected in spite of the absence of Igf1 signaling. Further examination of neural crest derivatives of heart and craniofacial structures did not exhibit any gross developmental defect, thus indicating a marginal role of Igf1 signaling in neural crest development.

2. Zusammenfassung

Die Entwicklung eines multizellulären Organismus erfordert die Koordination von Wachstum und der Generierung verschiedener Zelltypen. Dies wird durch das Vorhandensein von Stammzellen während der embryonalen und postnatalen Entwicklung erreicht. Stammzellen haben die Fähigkeit, einerseits sich selbst zu erneuern, um die Stammzellpopulation zu erhalten, und andererseits eine Diversität verschiedener, ausdifferenzierter Zelltypen oder determinierter Vorläuferzellen hervorzubringen. Es ist ein zentrales Anliegen der zell- und entwicklungsbiologischen Forschung geworden, die Mechanismen, welche die Selbsterneuerung und Differenzierung von Stammzellen regulieren, zu verstehen. Ein besseres Verständnis solcher Mechanismen bildet die Grundlage für eine gezieltere Verwendung von Stammzellen in der Forschung und in therapeutischen Anwendungen. In meiner Doktorarbeit habe ich mich auf die entwicklungsbiologischen Aspekte von Neuralleisten-Stammzellen konzentriert. Diese Stammzellen haben das Potenzial zur Erzeugung einer Vielzahl von neuronalen und nicht-neuronalen Zelltypen, insbesondere auch von solchen, die zu kraniofazialen Strukturen beitragen. Die Analyse der molekularen Signalwege, welche die Differenzierung von Neuralleisten-Stammzellen in verschiedene Linien regulieren, haben über die letzten Jahre viel Beachtung erhalten.

Während meiner Doktorarbeit habe ich aufgeklärt, wie es zur Entstehung einer spezifischen, nicht-neuronalen Vorläuferzelle aus einer Neuralleisten-Stammzelle

kommt. Mittels ex vivo Zellkulturen, konnte ein neuartiger kranialer Neuralleisten-Progenitor im pharyngealen Apparat des sich entwickelnden Embryos identifiziert werden. Unter Verwendung von Differenzierungs- und Selbsterneuerungsassays zeigte sich, dass diese Zellen eine determinierte Vorläuferzellpopulation mit limitierter Selbsterneuerungs- und Differenzierungskapazität darstellen. Diese Progenitoren aus dem pharyngealen Apparat differenzieren nur in Zelltypen der ektomesenchymalen und nicht in solche der neuronalen Linien. Ausserdem habe ich gezeigt, dass transforming growth factor β 1 (Tgf β 1) die Konvertierung einer Neuralleisten-Stammzelle in eine solche Vorläuferzelle ex vivo induziert. Priming mit Tgf β 1 verändert die Differenzierungsmöglichkeiten einer Neuralleisten-Stammzelle des Rumpfes, indem der Transkriptionsfaktor Sox10 herunterreguliert wird. Die Deletion von Sox10 in Neuralleisten-Stammzellen des Rumpfes, unterdrückt die neuronale Linie und erhöht die Reaktionsfähigkeit auf externe Signale, die zur Differenzierung in die ektomesenchymale Linie führen. Daher konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Aktivierung des Tgf β -Signalwegs in Neuralleistenzellen Sox10 unterdrückt und während der embryonalen Entwicklung zu einem eingeschränkten Differenzierungspotenzial dieser Zellen führt.

In einem weiteren Teil meiner Doktorarbeit habe ich die Bedeutung des Insulin-like growth factor1 (Igf1) Signalwegs während der Embryonalentwicklung der Maus in Neuralleistenzellen analysiert. Die konditionelle Deletion des für den Igf1-Rezeptor Typl codierenden Gens in Neuralleistenzellen hatte keine

phänotypische Veränderung zur Folge. Die mutanten Embryonen wurden zwar geboren, litten aber unter einem sofortigen Atemstillstand und wurden zyanotisch. Eine Kurzanalyse zeigte, dass die Differenzierung und Proliferation der Neuralleistenzellen trotz des fehlenden Igf1-Signalwegs unverändert blieben. Die weitere Untersuchung der Neuralleistenzellderivate im Herz und in kraniofazialen Strukturen hat keine Entwicklungsdefekte zum Vorschein gebracht. Daher scheint der Igf1-Signalweg eine unbedeutende Rolle in der Entwicklung der Neuralleistenzellen zu spielen.