

# Imaging of adult hippocampal neurogenesis

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Borgmann, Felix Bruno Kleine

**Publication date:**

2012

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-007557328>

**Rights / license:**

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

Diss. ETH Nr. 20615

# Imaging of Adult Hippocampal Neurogenesis

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER WISSENSCHAFTEN

der

ETH ZÜRICH

vorgelegt von

Felix Bruno Kleine Borgmann

Dipl. Biol., Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

geboren am 29.2.1980

in Münster, Deutschland

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. Sebastian Jessberger

Prof. Dr. Ueli Suter

Prof. Dr. Isabelle Mansuy

2012

# 1 ZUSAMMENFASSUNG

Im Gehirn aller bisher untersuchter Säugetiere entstehen ständig neue Nervenzellen, im Wesentlichen im Gyrus dentatus (GD) des Hippocampus und bei den meisten Säugern auch in der Subventrikularzone (SVZ), in der Wand der lateralen Ventrikel. Der DG ist als Teil der Hippocampusformation an Prozessen beteiligt, die dem Lernen und Gedächtnis zugrunde liegen. Neugeborene Nervenzellen im DG müssen sich in ein schon bestehendes neuronales Netzwerk integrieren. Interessanterweise bilden sie dabei ihre Synapsen bevorzugt an schon bestehende Synapsen; dadurch entsteht zeitweilig eine Konstellation, die als multiple synapse bouton bezeichnet wird und aus einem prä- und zwei postsynaptischen Partnern besteht. Die neugeborenen Nervenzellen sind plastischer als die reifen Neuronen des DG. Diese beiden Beobachtungen haben zu der Hypothese geführt, die Integration neuer Nervenzellen finde als eine Art Wettbewerb um synaptische Partner statt, an dessen Ende nur die erfolgreichen überleben. Wir haben die Annahme aufgestellt, dass eine Erhöhung der Plastizität reifer hippocampaler Neuronen entsprechend den neugeborenen den Wettbewerbsvorteil entzöge und einen Einfluss auf ihre Entwicklung und Integration habe. Um diese Hypothese zu testen, haben wir ein transgenes Mausmodell verwendet, in dem NIPP1 induzierbar und spezifisch in reifen Vorderhirnneuronen exprimiert wird und in diesen die Plastizität erhöht. In diesen Mäusen war die Zahl neuer Nervenzellen im Alter von 3 Wochen stark reduziert, während Zellteilung und Differenzierung normal abliefen. Die überlebenden Nervenzellen in NIPP1 Mäusen hatten kürzere und weniger stark verzweigte Dendriten, was auf Schwierigkeiten bei der Integration hindeutet. Diese Erkenntnisse bereichern unser Verständnis der neuronalen Integrationsprozesse und deuten darüberhinaus auf eine spezielle Funktion neuer Nervenzellen im erwachsenen Gehirn hin.

Viele der Vorgänge im Gehirn sind experimentell schlecht zugänglich und daher wenig erforscht. Wir haben ein *ex vivo* Modell des Hippocampus etabliert, das auf der Kultivierung von Hirnschnitten beruht. Durch eine Kombination aus der transgenen Reportermauslinie Nes-GFP und Retroviren konnten wir Stammzellen und neugeborene Nervenzellen fluoreszent markieren und ihre Entwicklung über Tage hinweg verfolgen. In den Kulturen wurden neue Nervenzellen geboren und wir konnten die Wachstumsgeschwindigkeiten ihrer Dendriten messen, etwas, was *in vivo* nach derzeitigem Stand der Technik nicht möglich wäre. Diese Studie etabliert die Hippocampusschnittkulturen aus dem erwachsenen Gehirn damit als ein vielversprechendes Werkzeug für die Forschung an adulter Neurogenese.

## 2 SUMMARY

New neurons are generated in the mammalian brain throughout life in two distinct areas, the subventricular zone (SVZ) of the lateral ventricles and the hippocampal dentate gyrus (DG). The DG is part of the hippocampal formation, which is involved in processes underlying certain forms of learning and memory. In the DG, newborn granule cells have to integrate into a pre-existing neural network. Interestingly, newborn cells preferentially form synapses onto pre-existing axonal boutons, forming multiple synapse boutons. They exhibit a higher plasticity than mature neurons during the time of their integration.

This has led to the hypotheses that new neurons have to outcompete existing neurons in order to become functionally integrated and that network activity within the hippocampal circuitry is critically involved in selection and integration of adult-born neurons. We hypothesized that increased excitability of the mature hippocampal neuronal network affects neuronal maturation and integration of newborn granule cells. To test this hypothesis, we used a mouse model expressing NIPP1 in an inducible manner in mature forebrain neurons, which then acquire a higher level of plasticity. We found that new neurons in these mice are reduced in number after 3 weeks, while the rate of proliferation and differentiation was not affected. The surviving dendrites showed a reduced arborization of the dendritic tree, indicating a failure to integrate. These data provide new insights in how adult-born neurons integrate into the DG neuronal network and hint at a possible way to exert a specific function in learning and memory.

Because *in vivo* approaches have certain technical limitations, there are considerable gaps in our knowledge of the anatomical differentiation, maturation and integration of newborn neurons. We have therefore established an *ex vivo* model based on culturing hippocampal slices for live cell imaging. We used a Nes-GFP transgenic reporter line and retroviral labeling to visualize stem cells and newborn neurons and were able to follow their development over time. The slices were taken with respect to the orientation of the neuronal pathways and sustained tissue integrity in culture. The birth of new neurons continued in culture and was confined to the neurogenic area, closely resembling the *in vivo* situation in the adult hippocampus.

We analyzed the dendritic growth and were able to determine their growth rate, something that had not yet been accomplished *in vivo*. Our study therefore establishes an adult hippocampal slice culture system as a promising tool and model to investigate adult neurogenesis.