ETH zürich

ETH Library

Animal models for hereditary motor and sensory neuropathies

Doctoral Thesis

Author(s):
Adlkofer, Kathrin

Publication date:
1997

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-001794144

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 ex. B

Diss. ETH No. 12153

Animal Models for Hereditary Motor and Sensory Neuropathies

A dissertation submitted to the
EIDGENOESSISCHE TECHNISCHE HOCHSCHULE (ETH)
ZUERICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
Kathrin Adlkofer

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH
CatE

Dipl. Biologe Universität Zürich
Born September 5, 1966 in Munich, Germany
Citizen of Germany

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Ueli Suter, examiner
Prof. Dr. Martin Schwab, co-examiner

1997

1. Zusammenfassung

Peripheres Myelin Protein 22 (PMP22) ist wichtig für Myelinisierung und Zellproliferation im peripheren Nervensystem (PNS). Vererbare Neuropathien, wie die Charcot-Marie-Tooth'sche Krankheit vom Typ 1A (CMT1A) und die Neuropathie mit Neigung zu Drucksensitivität (HNPP), sind mit einer spezifischen intrachromosomalen Umlagerung auf Chromosom 17 assoziiert. Diese Rearrangierung umfasst ein 1.5 Megabasen DNS-Fragment, auf welchem unter anderem das PMP22-Gen liegt. Auch Punktmutationen im PMP22-Gen können zu CMT1A oder zu einer ähnlichen Neuropathie, dem Dejerine-Sottas-Syndrom (DSS), führen. Solche Mutationen wurden nicht nur im Menschen, sondern auch in zwei unterschiedlichen natürlichen Mausmutanten, der *Trembler-* (*Tr*) und *TremblerJ-* (*TrJ*) -Mutante, gefunden. Charakteristische Merkmale dieser beiden Mausmutanten sind eine segmentierte Demyelinisierung des peripheren Nervensystems, Zwiebelschalenformationen und eine erhöhte Zahl von Schwannzellen. Homozygote *Trembler* Mäuse weisen kaum kompaktes PNS Myelin auf und zeigen starke Bewegungsstörungen.

In der vorliegenden Arbeit konnte durch gezielte Inaktivierung des PMP22-Genlocus im Mäusegenom die essentielle Rolle von PMP22 bei der Bildung und Erhaltung des kompakten Myelins nachgewiesen werden. Mäuse, die keinerlei PMP22 expremierten, wiesen eine deutliche Verzögerung im Beginn der Myelinisierung auf und entwickelten in frühen Entwicklungsstadien wurstförmige, fokale Hypermyelinisierungen (sog. Tomakula). In der weiteren Entwicklung zeigten sich segmentelle Demyelinisierungen, eine reduzierte Nervenleitgeschwindigkeit, sowie axonale Degeneration.

Mäuse, in denen nur ein PMP22-Allel deletiert ist, sind genotypisch vergleichbar mit HNPP-Patienten. Auch diese Tiere entwickeln eine tomakuläre Neuropathie. Eine progressive Demyelinisierung in der Form von Zwiebelschalenformationen und einer abnormalen Veränderung der

Elektrophysiologie konnte erst in älteren Tieren festgestellt werden. Ausserdem zeigten diese Tiere einen sehr variablen, mit der HNPP-Erkrankung beim Menschen vergleichbaren Phänotyp. Mit der Analyse dieser Tiere ist es nun möglich zu prüfen, weshalb HNPP-Patienten im Alter oft eine progressive motorische und sensible Neuropathie entwickeln, die der CMT-Erkrankung sehr ähnlich ist.

Im weiteren konnten durch entsprechende Kreuzungen zweifach-mutierte Mäuse gezüchtet werden, in denen ein PMP22-Allel deletiert ist und das zweite Allel die *Trembler* Punktmutation aufweist. Diese doppel-mutanten Tiere vom Genotyp *Tr/0* konnten anschliessend mit anderen murinen PMP22-Mutanten (*Tr/+*, *Tr/Tr*, $PMP22^{+/0}$, $PMP22^{0/0}$) morphologisch verglichen werden. Dabei konnte gezeigt werden, dass das Trembler-Protein einen "dominant-negativen" und/oder "gain-of-function" Effekt ausübt und nicht einfach einem Nullallel entspricht. Ausserdem konnte eine direkte Korrelation zwischen zunehmender Trembler-Gen Dosis und Abnahme des kompakten Myelins und dessen Myelinproteine, wie P0 and MBP, gezeigt werden.

2. Summary

Peripheral myelin protein 22 (PMP22) has been suggested to play an important role in myelination and cell proliferation in the peripheral nervous system (PNS). The hereditary peripheral neuropathies Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT1A) and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP), both are associated with a rearrangement on chromosome 17 which comprises a 1.5 megabase fragment, including the *PMP22* gene. Specific missense mutations within the PMP22 gene lead to either CMT1A or to another peripheral neuropathy, the congenital Dejerine-Sottas Syndrome (DSS). Moreover, *pmp22* missense mutations have been also found in two allelic forms of PNS dysmyelination mouse mutants, *Trembler* (*Tr*) and *Trembler-J*(*Tr-J*). Both, *Tr* and *Tr-J* are characterised by severe segmental demyelination of peripheral nerve fibers, onion bulb formation and an increased number of Schwann cells. Homozygous *Tr* mutants (*Tr/Tr*) exhibit a more severe peripheral nerve defect in that they are almost completely devoid of myelin. By generating mice carrying a null mutation in the *pmp22* gene, we were able to demonstrate the involvement of PMP22 in the formation and maintenance of the myelin sheath. Mice which are totally devoid of PMP22 are retarded in the onset of myelination and develop abundant sausage-like hypermyelination structures (tomacula) at young age followed by severe demyelination, reduced nerve conduction velocity and axonal loss. Heterozygous PMP22-deficient mice, which carry only one functional *pmp22* allele, and thus genetically mimic HNPP closely, develop similar morphological and electrophysiological abnormalities as observed in HNPP patients. Focal hypermyelination, so-called tomacula, is observed in young heterozygous PMP22-deficient animals, while progressive degeneration of myelin and abnormal electrophysiological changes can be found in ageing $PMP22^{+/0}$ mice. Degenerating tomacula are present as well as supernumerary Schwann cells forming onion bulbs as signs of

demyelination and remyelination. The severity of morphological and electrophysiological abnormalities is highly variable in these animals which is, again, reminiscent of the disease progression in HNPP pathogenesis. Thus, PMP22$^{+/0}$ mice represent a valuable animal model for this hereditary disorder. Based on the morphological and electrophysiological findings, we are able to give a possible explanation why some HNPP patients develop a more severe motor and sensory neuropathy later in life which shows similar morphological and clinical features as found in CMT patients.

In cross breeding experiments, double mutant animals were generated in which one *pmp22* allele is disrupted and the second allele contains the *Tr* point mutation. The double mutant *Tr/0* mice were compared with various allelic combinations of the *pmp22* gene (*Tr/+*, *Tr/Tr*, PMP22$^{+/0}$, PMP22$^{0/0}$) with respect to morphological myelin abnormalities. Thereby, we could show that the Tr protein exerts its effect via a dominant gain-of-function, rather than a loss-of-function mechanism. Furthermore, we demonstrate that increasing the *Tr* gene dosage correlates with decreased expression of myelin proteins like MBP and P0, and a severe reduction of compact myelin.