ETH zürich

ETH Library

L1 mutant mice
an animal model for crash syndrome?

Doctoral Thesis

Author(s):
Dahme, Miriam

Publication date:
1998

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-001892256

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 Nr. 12495

L1 MUTANT MICE

AN ANIMAL MODEL FOR CRASH SYNDROME?

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH

Abhandlung zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von
Miriam Dahme
Dipl. Biol., Ernst-Moritz-Arndt Universität
geboren am 9. April 1969
Greifswald, Deutschland

Angenommen auf Antrag von:
Prof. M. Schachner
Prof. U. Suter
PD Dr. N. Mantei

Zusammenfassung

Das Zelladhesionsmolekül L1 gehört zur Familie der Immunoglobuline, deren Verwandtschaft aus der Übereinstimmung eines Strukturmerkmales - der Immunoglobulindomäne - resultiert. L1 wird vorwiegend aber nicht ausschliesslich in neuronalen Geweben exprimiert und beeinflusst dort verschiedene Zellinteraktionen, wie Migration von Neuronen, das Auswachsen von Neuriten und das richtungsabhängige Wandern des Wachstumskegels von Axonen, sowie deren Bündelung. Im peripheren Nervensystem ist L1 wichtig für die Myelinisierung von Axonen und es spielt eine bedeutende Rolle in der Regeneration von Nervenzellen. Arbeiten der letzten Zeit konnten zeigen, dass L1 seine Funktionen nicht nur durch seine adhäsiven Fähigkeiten realisiert, sondern auch in verschiedene Signaltransduktionsketten involviert ist, die diese Funktionen (z.B. das Neuritenwachstum) nachhaltig beeinflussen. Mutationen im L1-Gen beim Menschen führen zu einem komplexen Phänotyp, der durch das Acronym CRASH beschrieben wird, welches die Hauptmerkmale der Erkrankung nennt. CRASH steht für: Corpus callosum Hypoplasie, Retardierung, Fixierung der Daumen (adducted thumbs), Spastische Paraplegie und Hydrozephalus. Bis heute sind 81 verschiedene Mutationen im L1 Gen bekannt. Da das Gen auf dem X Chromosom liegt sind in der Regel nur Jungen von dieser Krankheit betroffen, die je nach verursachendem Auslöser zu einem mehr oder weniger gravierendem Phänotyp führt. Zugleich zeigen sich aber innerhalb verschiedener als auch innerhalb einer Familie gravierende Unterschiede in der Ausprägung der Krankheit.

So erschien es interessant, ein Mausmodell zu etablieren, dass einer der gezeigten Mutationen im Menschen gleicht. Dies würde uns einerseits die Möglichkeit geben, grundlegend die Funktionen von L1 während der Entwicklung als auch im Erwachsenenstadium sowie auch bei der Regeneration im komplexen Zusammenspiel aller Moleküle, die an diesen Prozessen mitwirken, in seiner natürlichen Umgebung zu studieren. Andererseits wäre damit auch die Möglichkeit gegeben, die verschiedenen Krankheitsbilder möglicherweise verschiedenen Funktionen des Moleküls zuordnen zu können.

Leider war es nicht möglich eine Mauslinie mit nur einer Punktmutation im *L1*-Gen zu etablieren. Es bestand jedoch die Möglichkeit, ein Mausmodell zu generieren, welches nur noch 0.25% der ursprüglichen Menge des Moleküls in veränderter Form produzierte. Diese *L1*-Mutante

ist im Vergleich zum Wildtyp kleiner und die Augen liegen tiefer in den Augenhöhlen. Die Bewegung der Hinterfüsse kann offensichtlich nicht mehr ausreichend gesteuert werden. Die Mutante reagiert ebenfalls weniger empfindlich auf Druck- und Schmerzreize. Das prägnanteste morphologische Merkmal ist die Vergrösserung der lateralen Ventrikel in strenger Korrelation mit dem genetischen Hintergrund. Die Grösse des Kortikospinaltraktes ist ebenfalls reduziert. Im peripheren Nervensystem beobachtet man eine Beeinträchtigung der Myelinisierung durch nicht-Myelin-bildende Schwannsche Zellen, wohingegen die Myelinisierung durch Myelin-bildende Schwannsche Zellen nicht gestört scheint. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass L1-abhängiges Neuritenwachstum von Kleinhirnneuronen vollständig unterbunden ist. Die Bündelung von Axonen ist offensichtlich auch beeinträchtigt.

Zusammenfassend kann man sagen, dass das hier beschriebene Mausmodell einen ähnlichen Phänotyp wie für CRASH beschrieben gezeigt hat, insbesondere in Bezug auf den Hydrozephalus und die Paraplegie. Die Unterschiede bezüglich des genetischen Hintergrundes könnten ein erster Hinweis auf die grosse Variabilität des Phänotyps sein. Es ist weiterhin denkbar, dass Neuronen dieses Mausmodells ein geeignete Quelle zum Studium von Interaktionen zwischen L1 und anderen Molekülen darstellt, und die detailierte Erforschung dieser Mutante weitere Einblicke in die Funktionen von L1 *in vivo* geben wird.

Summary

The cell adhesion molecule L1 is a member of the immunoglobulin superfamily. It is involved in neural cell interactions, such as neurite outgrowth, growth cone pathfinding, fasciculation, and migration. In the PNS it is also important for myelination and it seems that L1 has an important role during regeneration. During the last years it becomes more and more evident that L1 is not only an adhesion molecule but also a part of different signalling pathways, through which its functions (*e.g.*, neurite outgrowth) are realized. In humans, mutations in the L1 gene lead to CRASH, an acronym for corpus callosum hypoplasia, retardation, adducted thumbs, spastic paraplegia, hydrocephalus as the main clinical signs. Until now 81 different mutations have been described. Since the *L1* gene is linked to the X chromosome, normally only male newborns are affected. The disease shows a great inter- and intrafamilial variability and the severity depends on the exact mutation in the gene.

Thus, it appeared interesting to generate a mouse model for this kind of disease. It would help us to understand the function of L1 *in vivo* during development and in the adult, as well as during regeneration, and the complex cooperation of all molecules that take part in these processes. On the other hand, such a model offers the possibility of studying the characteristic signs of the different syndromes in connection with the known functions of L1.

Unfortunately, it was not possible to generate a mouse carrying a point mutation in L1 as described for one case of human CRASH. I was, however, able to generate a mouse that expresses only 0.25% of the normal amount of L1 in an altered form. Compared to wild type, these mutant mice were smaller and the eyes lay further back in the eyesockets. The hind legs appeared weak and uncoordinated. They showed less sensitivity to different stimuli of touch and pain. The most impressive morphological sign was the enlargement of the lateral ventricles, strongly depending on the genetic background of the mouse line. The size of the corticospinal tract at the level of the caudal medulla was also reduced. In the PNS, myelin-forming Schwann cells seemed not to be affected, whereas non-myelin forming Schwann cells showed subtle abnormalities. They ensheathed fewer axons than normal, and formed slender processes not associated with axons. Small cerebellar neurons of mutant mice cultured on L1 as substrate showed impaired neurite outgrowth. There

was reduced fasciculation of neurites growing out of cerebellar explants on a "neutral" substrate not promoting outgrowth.

In summary, the generated mutant roughly represents a model for CRASH, since some of the described clinical signs are observed in mutant mice, such as hydrocephalus and spastic paraplegia. The differences observed during examination of the ventricles of affected mice with different genetic backgrounds could be a first step to explain the great inter- and intrafamilial variability of the disease. Furthermore, neurons of mutant animals will be an useful tool to study interactions of L1 with other molecules in vitro. The mutant mouse will help to elucidate the functions of L1 in the nervous system and how these depend on genetic influences.