

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Funktionen des Transkriptionsfaktors Bcl11b während der Entwicklung des Hippocampus untersucht. Hierfür wurde der Phänotyp von Mäusen mit einer Vorderhirn-spezifischen Mutation im Bcl11b Gen analysiert.

In diesen Mäusen führt eine gestörte Neurogenese während der frühen postnatalen Entwicklung des Gyrus dentatus zu einer signifikant reduzierten Anzahl an Körnerzellen. Neurogenese führt von proliferierenden Progenitorzellen über postmitotische, sich differenzierende, unreife Neurone schließlich zu funktionellen, reifen Nervenzellen. Dieser sehr komplexe und dynamische Prozess wird durch das Zusammenwirken einer Vielzahl verschiedener Faktoren gesteuert, die sowohl an der Kontrolle der Proliferation, Migration und Differenzierung, aber auch des Überlebens der Progenitorzellen und unreifen Neurone beteiligt sind. Ich konnte zeigen, dass in den Bcl11b mutanten Tieren einerseits die Anzahl proliferierender Progenitorzellen der postnatalen tertiären Matrix reduziert ist, andererseits auch die terminale Differenzierung von postmitotischen, unreifen Körnerzellen beeinträchtigt ist. Darüber hinaus konnte auch ein vermehrter apoptotischer Zelltod in der Körnerzellschicht der Mutanten nachgewiesen werden. Durch Verhaltensexperimente konnte ich ferner zeigen, dass die morphologischen Veränderungen im postnatalen Gyrus dentatus mit einem deutlich eingeschränkten emotionalen und kognitiven Lernverhalten der mutanten Mäuse assoziiert sind.

4.1 Bcl11b ist essentiell für die postnatale Neurogenese im Gyrus dentatus

Die Morphogenese der Körnerzellschicht während der Entwicklung des Gyrus dentatus umfasst grob zwei Entwicklungsphasen: die erste Phase findet pränatal statt und umfasst die Bildung der ersten mitotischen Progenitorzellen als auch postmitotischen, unreifen Körnerzellen aus der sekundären Matrix des Neuroepithels. Diese wandern in die Anlage des Gyrus dentatus ein, wo sie sich hauptsächlich im dorsalen (suprapyramidalen) Blatt der sich ausbildenden Körnerzellschicht ansiedeln (s. 1.2). Die zweite Phase findet postnatal statt und beinhaltet die Etablierung einer zweiten neurogenen Nische mitotisch aktiver Progenitorzellen innerhalb des Gyrus dentatus, der tertiären Matrix. Aus dieser werden mehr als 80% der Zellen des Gyrus dentatus gebildet und auch in der adulten Phase wird in

dieser neurogenen Nische in der Subgranularschicht weiterhin Neurogenese aufrechterhalten (Schlessinger *et al.*, 1975; Altman und Bayer, 1990).

Die histologischen Untersuchungen der Phänotypanalyse zeigen, dass der Gyrus dentatus des postnatalen Hippocampus der Bcl11b Mutanten deutlich verkleinert ist und es konnte eine signifikante Reduktion der Anzahl an Körnerzellen in den Mutanten um mehr als 30% zum Zeitpunkt P30 beobachtet werden. Untersuchungen des Proliferationsverhaltens der Progenitorzellen zeigen, dass die Anzahl mitotisch aktiver Progenitorzellen der tertiären Matrix im frühen postnatalen Gyrus dentatus signifikant in den Mutanten reduziert ist: am Tag P7, wenn sich die mitotischen Progenitorzellen noch hauptsächlich im Hilus befinden, um 25% im Vergleich zu den Kontrollen, am Tag P14, wenn sich die in ihrer Anzahl reduzierten Progenitorzellen in der Subgranularschicht befinden, um 40%. Perinatal zum Zeitpunkt E18 konnten dagegen keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl mitotisch aktiver Zellen in den Mutanten beobachtet werden. Auch die histologischen Untersuchungen zeigen weder auffällige morphologische Unterschiede in der zellulären Architektur des Hippocampus der Bcl11b Mutanten noch eine deutliche Reduktion der Größe des sich entwickelnden Hippocampus oder Gyrus dentatus. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass die pränatalen Entwicklungsprozesse des Gyrus dentatus wahrscheinlich weitgehend normal in den Mutanten verlaufen. Die beobachtete reduzierte Körnerzellzahl in den Mutanten kann daher auf die reduzierte Anzahl proliferierender Progenitorzellen aus der postnatal gebildeten tertiären Matrix zurückgeführt werden.

Die Expressionsanalyse von Bcl11b während der Entwicklung des Gyrus dentatus zeigt ferner, dass sich der Transkriptionsfaktor nicht in mitotischen Progenitorzellen nachweisen lässt. Bcl11b wird erst von postmitotischen, differenzierenden, unreifen Zellen innerhalb des Gyrus dentatus exprimiert, die einer Subpopulation NeuroD positiver Zellen zuzuordnen sind sowie von allen reifen Körnerzellen. Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass Bcl11b indirekt an der Kontrolle des Progenitorpools der tertiären Matrix beteiligt ist.

Neurogenese im Gyrus dentatus sowie die Natur der neuronalen Progenitorzellen wurden v.a. im adulten Gehirn intensiv untersucht (Alvarez-Buylla und Lim, 2004; Ming und Song, 2005; Kempermann *et al.*, 2004; Lledo *et al.*, 2006). Es konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Progenitorzellen in der Subgranularschicht um GFAP exprimierende Zellen handelt, die elektrophysiologische und morphologische Merkmale von Astrozyten aufweisen (Seri *et al.*, 2001; Filippov *et al.*, 2003). Die GFAP positiven Progenitorzellen zeigen eine vergleichbare Morphologie zu Radial-Glia Zellen der embryonalen

Ventrikularzone, die Eigenschaften neuronaler Stammzellen besitzen, weshalb auch für mitotische Progenitorzellen der Subgranularschicht Stammzeleigenschaften diskutiert werden (Seri *et al.*, 2001; Doetsch *et al.*, 1999; Fukuda *et al.*, 2003; Alvarez-Buylla *et al.*, 2002). Die mitotische Aktivität dieser Radial-Glia ähnlichen Progenitorzellen führt zu transient proliferierenden, neuronalen Progenitorzellen, die schließlich aus dem Zellzyklus austreten, um sich, zunächst, zu unreifen Neuronen zu differenzieren (Kempermann *et al.*, 2004; Kronenberg *et al.*, 2003). Neuronale Stammzellen unterscheiden sich von mitotischen Progenitorzellen durch ihre fortgesetzte Fähigkeit zur Selbsterneuerung mit unbegrenzter Proliferationsaktivität, während Progenitorzellen nicht zur Selbsterneuerung fähig sind und ihre Proliferationskapazität limitiert ist. Wie Stammzellen können Progenitorzellen aber auch multipotent sein, d.h. Gliazellen und Nervenzellen bilden. Neuroblasten oder neuronale Progenitorzellen bezeichnen dagegen mitotische Progenitorzellen mit einer neuronalen Spezifizierung, d.h. ihr weiteres Schicksal ist auf eine Differenzierung zu Nervenzellen festgelegt. Sie sind nicht mehr multipotent (Reynolds und Rietze, 2005).

Relativ wenig ist bisher über die Kontrolle und Entwicklung der Progenitorzellen der frühen postnatalen Neurogenese bekannt, eine Art Übergangsstadium zwischen der embryonalen und adulten Neurogenese, deren korrekte Entwicklung Voraussetzung für die Etablierung der adulten neurogenen Nische ist. Auch für mitotisch aktive Progenitorzellen der hilären tertiären Matrix im frühen postnatalen Gyrus dentatus konnten Astrozyten- und Radial-Glia ähnliche Merkmale nachgewiesen werden (Rickmann *et al.*, 1987; Sievers *et al.*, 1992). In den Arbeiten von Namba *et al.* (2005) konnte gezeigt werden, dass ein großer Teil dieser mitotischen Progenitorzellen sich zu proliferierenden Neuroblasten und postmitotischen, unreifen Neuronen differenzieren, die in die Körnerzellschicht hineinwandern. Eine kleine Anzahl der mitotischen Progenitorzellen differenzieren sich im Hilus und der Körnerzellschicht zu Astrozyten und eine weitere Subpopulation wandert in die Subgranularschicht ein, wo sie sich zu Radial-Glia ähnlichen Zellen differenzieren, den potentiellen Stammzellen der adulten Neurogenese. Da in den Bcl11b Mutanten eine reduzierte Anzahl mitotischer Progenitorzellen nicht nur im Hilus, sondern verstärkt auch in der Subgranularschicht beobachtet werden kann, könnte Bcl11b sowohl an der Kontrolle der frühen postnatalen Bildung weiterer Körnerzellen, aber auch der adulten neurogenen (Stammzell-) Nische beteiligt sein.

4.1.1 In Bcl11b Mutanten ist sowohl die Proliferation als auch das Überleben der Zellen im Gyrus dentatus beeinträchtigt

Durch Proliferation der Progenitorzellen in der Subgranularschicht werden jeden Tag mehrere tausend neuronale Vorläuferzellen im adulten Gyrus dentatus geboren, aber nur wenige davon differenzieren sich zu reifen, funktionellen Neuronen (Biebl *et al.*, 2000). Der Prozess der postnatalen Neurogenese erfordert eine genaue und fein abgestimmte Balance zwischen Proliferation und Differenzierung der Progenitorzellen auf der einen Seite und Eliminierung überzähliger oder nicht-funktioneller, neuronaler Zellen durch den apoptotischen Zelltod auf der anderen. Dies ist essentiell für die Gewährleistung und Aufrechterhaltung der korrekten Größe sowie der strukturellen und funktionellen Integrität der Gehirnstruktur. Ich konnte zeigen, dass der Funktionsverlust von Bcl11b sowohl mit einer verminderten Proliferation der Progenitorzellen als auch einem erhöhten apoptotischen Zelltod im postnatalen Gyrus dentatus assoziiert ist, die zu einer reduzierten Neurogenese führen.

Bcl11b wird nicht von mitotischen Progenitorzellen exprimiert, sondern erst von Zellen, die aus dem Zellzyklus ausgetreten sind. Somit handelt es sich bei der reduzierten Anzahl mitotisch aktiver Zellen nicht um einen zell-autonomen Effekt der Bcl11b Mutation. Möglicherweise gehen von den postmitotischen, Bcl11b exprimierenden Zellen extrazelluläre Signale aus, die auf die Zellen der Umgebung innerhalb der neurogenen Nische wirken und die das Verhalten der Progenitorzellen beeinflussen. Da in Bcl11b Mutanten auch die Differenzierung von unreifen Neuronen zu funktionellen Körnerzellen beeinträchtigt ist (s. 4.2), ist nicht auszuschließen, dass Bcl11b primär an der Kontrolle der Differenzierung der postmitotischen Zellen involviert ist, und dass als sekundärer, indirekter Effekt der Bcl11b Mutation, eine nicht korrekt abgeschlossene Differenzierung der Bcl11b mutanten Zellen zu retrograden Signalen führt, die eine beeinträchtigte Proliferation zur Folge hat. Beispielsweise könnten diese Signale die Aktivität von bestimmten Faktoren oder Signalmolekülen in Signalwegen regulieren, deren „downstream“ Zielgene wiederum direkt die Progenitorzellen kontrollieren. Signalmoleküle steuern verschiedene intrazelluläre Prozesse, indem sie als extrazelluläre Liganden an entsprechende Rezeptoren in der Zellmembran binden und hierdurch in den Zellen ein Signal erzeugen, das über weitere Signalübertragungen schließlich zu einer Aktivierung oder Abschaltung von Genen führt. Das Verhalten der Progenitorzellen im postnatalen Gyrus dentatus wird durch eine Vielzahl von Signalmolekülen und Faktoren reguliert, die von den Progenitorzellen selbst exprimiert werden (intrinsische Faktoren), die

aber auch von den Zellen aus der Umgebung ausgehen (extrinsische Faktoren). Astrozyten, Endothelzellen, Mikroglia-Zellen, aber auch lösliche Faktoren und extrazelluläre Matrixmoleküle in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Progenitorzellen bilden zusammen eine hochspezialisierte, neurogene Nische, die essentiell für das Überleben, die Proliferation und Differenzierung der Progenitorzellen ist (Lledo *et al.*, 2006; Alvarez-Buylla *et al.*, 2004; Ming und Song, 2005).

Als intrinsische Faktoren regulieren beispielsweise Sonic hedgehog (Shh), Notch-Signale, BMPs (bone morphogenic proteins) oder auch Wnt-Signale die Proliferation und neuronale Differenzierung der Progenitorzellen im postnatalen Gyrus dentatus. Die Faktoren dieser Signalwege werden von GFAP exprimierenden Zellen bzw. den potentiellen Stammzellen oder von den neuronalen Progenitorzellen exprimiert (Lai *et al.*, 2003; Stump *et al.*, 2002; Ueki *et al.*, 2003; Lie *et al.*, 2005). Verschiedene Wachstumsfaktoren, wie VEGF (vascular endothelial growth factor), BDNF (brain-derived neurotrophic factor) oder TGF- β stimulieren zum Beispiel als extrinsische Faktoren die Proliferation der Progenitorzellen und werden von Endothelzellen bzw. Mikroglia-Zellen (TGF- β) sezerniert (Jin *et al.*, 2002; Katoh-Semba *et al.*, 2002; Battista *et al.*, 2006).

Eine detaillierte Expressionsanalyse der verschiedenen Faktoren und Signalmoleküle der neurogenen Nische im Gyrus dentatus von Bcl11b Mutanten ist in weiterführenden Experimenten erforderlich, um zu untersuchen, über welche molekularen oder zellulären Mechanismen Bcl11b indirekt an der Kontrolle der Progenitorzellen involviert ist.

Im Gegensatz zu der in dieser Arbeit aufgezeigten, nicht zell-autonomen Funktion von Bcl11b bei der Kontrolle der mitotischen Progenitorzellen im Hippocampus, besitzt Bcl11b im lymphatischen System interessanterweise eine zellautonome Funktion bei der Regulation des Zellzyklus. Es konnte gezeigt werden, dass ein Verlust von Bcl11b in malignen und normalen T-Zelllinien zu einer veränderten Expression oder Aktivität von wichtigen Regulatoren des Zellzyklus führen wie dem Zellzyklus Inhibitor p27 und Chk1 (cell-cycle check-point kinase) (Kamimura *et al.*, 2007). In anderen *in-vitro* Experimenten konnte ein weiterer Zellzyklus Inhibitor, p57, als ein direktes Targetgen von Bcl11b identifiziert werden, dessen Transkription über eine Interaktion von Bcl11b mit dem NuRD (nucleosome remodeling and deacetylation) Komplex gehemmt wird (Topark-Ngarm *et al.*, 2006). Mutationen im Bcl11b Gen sind sowohl mit Lymphomen im Thymus der Maus als auch mit T-Zellen Leukämien beim Menschen assoziiert. (Oshiro *et al.*, 2006; Grabarczyk *et al.*, 2007; Wakabayashi *et al.*, 2003b). Aufgrund dieser Beobachtungen wird vermutet, dass Bcl11b im lymphatischen System die Funktion eines Tumorsuppressors

ausübt, deren genaue Mechanismen bisher aber nicht geklärt sind (Wakabayashi *et al.*, 2003b; Kamimura *et al.*, 2007). Tumorsuppressorgene kontrollieren die Aufrechterhaltung der genomischen Stabilität und Aktivität von Zellen, indem sie die Transkription von Genen regulieren, die bei der Steuerung des Zellzyklus und der Apoptose involviert sind. Bei Signalen, die durch eine fehlerhafte DNA Replikation bei DNA Schädigungen induziert werden, aktivieren Tumorsuppressoren Gene, die einen Arrest des Zellzyklus zur Folge haben, um entweder die zelluläre Reparatur oder den programmierten Zelltod einzuleiten, je nach Ausmaß der Schädigungen.

Andererseits wird auch vermutet, dass die protektive Funktion von Bcl11b bei Krebserkrankungen vielmehr ein indirekter Effekt sein könnte und auf einer Regulation des apoptotischen Zelltods beruht (Grabarczyk *et al.*, 2007). In Thymozyten von Bcl11b Mutanten ist die T-Zelldifferenzierung in einem bestimmten Entwicklungsstadium, wenn die Thymozyten erneut in den Zellzyklus eintreten, blockiert und mit einem erhöhten apoptotischen Zelltod assoziiert. Die Expression von anti-apoptotischen Proteinen, wie Bcl-xL und Bcl-2 ist reduziert (Wakabayashi *et al.*, 2003a; Inoue *et al.*, 2006; Grabarczyk *et al.*, 2007). Interessanterweise konnte für Bcl-2 eine wichtige Funktion während der adulten Neurogenese im Gyrus dentatus gezeigt werden. Eine Überexpression von Bcl-2 hat eine starke Reduktion der Anzahl apoptotischer Zellen und eine erhöhte Neurogenese im Gyrus dentatus zur Folge. Die Körnerzellschicht ist vergrößert. Es wird vermutet, dass der anti-apoptotische Effekt von Bcl-2 essentiell für das Überleben von unreifen Neuronen ist, die sich in einer späten Differenzierungsphase befinden, da keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl proliferierender Progenitorzellen festgestellt werden konnten (Kuhn *et al.*, 2005).

In Bcl11b Mutanten konnte eine signifikant erhöhte Anzahl apoptotischer Zellen in der frühen postnatalen Körnerzellschicht beobachtet werden. Die apoptotischen Zellen waren in der ganzen Breite der Körnerzellschicht lokalisiert v.a. des ventralen Gyrus dentatus, einige wenige waren in der Subgranularschicht zu finden. Um was für Zellen es sich bei den apoptotischen Zellen handelt, wurde allerdings nicht weiter untersucht. Es könnte sich bei diesen Zellen um postmitotische, sich differenzierende Zellen handeln, die aufgrund einer gestörten Differenzierung (s. 4.2) durch den apoptotischen Zelltod eliminiert werden. Da Bcl11b von differenzierenden Körnerzellen exprimiert wird, könnte es sich hier um einen zell-autonomen Effekt der Bcl11b Mutation handeln. Eindeutige Aussagen lassen sich aber nicht machen, da die mutanten Zellen sich nicht direkt nachweisen lassen. Es wäre interessant zu überprüfen, ob, in Übereinstimmung mit den Funktionen von Bcl11b

im lymphatischen System, möglicherweise auch eine veränderte Expression von pro-/anti-apoptischen Genen in Bcl11b Mutanten das Überleben der Zellen beeinträchtigt. Bcl11b könnte aber auch zusätzlich das Überleben der mitotischen Progenitorzellen beeinflussen, was eine mögliche Erklärung für die reduzierte Anzahl proliferierender Zellen liefern würde. In diesem Fall, wie auch bei einem Einfluss von Bcl11b auf das Proliferationsverhalten der Progenitorzellen, müsste es sich dann wieder um einen nicht zell-autonomen Effekt handeln.

4.2 Bcl11b ist essentiell für die terminale Differenzierung der Körnerzellen

NeuroD wird von einigen mitotischen, neuronalen Progenitorzellen, verstärkt aber von frühen postmitotischen, unreifen Neuronen des Gyrus dentatus ausgeprägt und ist essentiell für die Differenzierung der Körnerzellen. In NeuroD Mutanten ist die weitere Differenzierung der pränatal gebildeten unreifen Neurone, nachdem diese in die Anlage des Gyrus dentatus eingewandert sind, blockiert (Liu *et al.*, 2000; Miyata *et al.*, 1999). Eine Subpopulation der NeuroD positiven Zellen koexprimiert Bcl11b. Mit zunehmender Reifung der Körnerzellschicht nimmt die Expression von NeuroD innerhalb der Körnerzellschicht von innen nach außen ab, und ist bei Abschluss der Entwicklung auf wenige unreife Zellen der Subgranularschicht und innersten Körnerzellschicht begrenzt, die ein hohes Expressionsniveau von NeuroD zeigen. In Bcl11b Mutanten wird eine starke NeuroD Expression in Zellen der angrenzenden, äußeren Schichten aufrechterhalten, was darauf hindeutet, dass die weitere terminale Differenzierung dieser unreifen Zellen zu funktionellen Körnerzellen gestört ist. Dementsprechend lassen sich in den Mutanten weniger Zellen in der gesamten Breite der Körnerzellschicht nachweisen, die Marker für reife Neurone exprimieren, wie das Calcium-bindende Protein Calbindin oder Thy1. In transgenen Thy1-YFP Mäusen wird YFP unter der Kontrolle der neuronspezifischen Promotorregion von Thy1 selektiv in neuronalen Zellen, v.a. in Projektionsneuronen exprimiert. Da die Expressionsmuster in Mäusen derselben YFP-Thy1 Linie konstant mit nur minimalen Unterschieden sind, lassen sich durch eine vergleichende Expressionsanalyse nicht nur qualitative, sondern auch quantitative Aussagen machen (Feng *et al.*, 2000). Diese zeigt für die Mutanten eine stark reduzierte, kaum nachzuweisende Thy1 Expression in der äußeren Molekularschicht, in der sich die distalen Dendriten der Körnerzellen befinden. In der inneren Molekularschicht der Mutanten lässt

sich ein mit dem der Kontrolle vergleichbares Fluoreszenzsignal beobachten, bei dem es sich wahrscheinlich um Projektionen aus dem Hilus des ipsi- und kontralateralen Hippocampus handelt. Die reduzierte Expression in der äußeren Molekularschicht könnte sowohl die reduzierte Anzahl der Thy1 positiven Körnerzellen widerspiegeln, zusätzlich aber auch auf eine beeinträchtigte Dendritenentwicklung der Körnerzellen hindeuten.

Letzteres konnte durch die Analyse der Expression von Doublecortin bestätigt werden, einem etablierten Marker zur Untersuchung der Dendritogenese in sich differenzierenden unreifen Zellen (Shapiro *et al.*, 2004; Francis *et al.*, 1999). In *Bcl11b* mutanten Mäusen des Stadiums P30 sind die *Dcx* exprimierenden Dendriten der Körnerzellen stark verkürzt und reichen überwiegend nur bis in die innere Molekularschicht hinein, während in den Kontrolltieren *Dcx* positive Körnerzellendriten sich bis zur äußeren Grenze der Molekularschicht erstrecken. Darüber hinaus lässt sich in den Mutanten auch ein verändertes Verteilungsmuster der *Dcx* positiven Zellsomata in der Körnerzellschicht beobachten. *Dcx* exprimierende Zellen sind in den Mutanten über die ganze Breite der Körnerzellschicht verteilt, während hingegen in den Kontrollen *Dcx* positive Zellen hauptsächlich in der Subgranularschicht und innersten Körnerzellschicht nachzuweisen sind. Doublecortin ist essentiell für die neuronale Migration (Corbo *et al.*, 2002). Ferner konnte gezeigt werden, dass *Dcx* auch wichtige Funktionen bei der Dendritenentwicklung hippocampaler Neurone ausübt und daher vermutlich solange von unreifen, differenzierenden Neuronen ausgeprägt wird, bis die Dendriten ihr Ziel, im Gyrus dentatus die äußere Grenze der Molekularschicht, erreichen (Cohen *et al.*, 2006; Shapiro *et al.*, 2004). Die veränderte Verteilung der *Dcx* positiven Zellen über die ganze Breite der Körnerzellschicht könnte daher als eine Folge einer eingeschränkten Dendritenentwicklung der Körnerzellen interpretiert werden, in denen die *Dcx* Expression aufgrund einer nicht korrekt abgeschlossenen Dendritenentwicklung aufrechterhalten wird.

Golgi-Färbungen von adulten Hippocampi untermauern die Hypothese einer beeinträchtigten Dendritenentwicklung in den *Bcl11b* Mutanten. In diesen waren die Dendritenbäume der wenigen gefärbten Körnerzellen des ventralen Gyrus dentatus entsprechend der stark verschmälerten Molekularschicht schlecht entwickelt und kleiner im Vergleich zur Kontrolle. Die stark verschmälerte ventrale Molekularschicht könnte eine direkte Folge einer eingeschränkten Dendritenentwicklung sein, zusätzlich aber auch indirekt die Dendritogenese der Körnerzellen einschränken.

Die veränderte Verteilung der *Dcx* positiven Zellen sowie die histologischen Beobachtungen von Anzeichen einer möglichen Körnerzelldispersion könnte außerdem ein

Hinweis darauf sein, dass die Migration der unreifen Körnerzellen beeinträchtigt ist. Migrationsdefekten im Gyrus dentatus liegt häufig eine nicht korrekte Ausbildung des Radial-Glia-Fasergerüsts zu Grunde wie es beispielsweise in Mäusen mit Mutationen in Genen der Reelin-Signalkaskade (s. 1.2) zu beobachten ist (Förster *et al.*, 2002; Frotscher *et al.*, 2003; Weiss *et al.*, 2003). Radial-Glia Fortsätze dienen als eine Art Leitstrukturen, entlang derer die neugeborenen, unreifen Neurone aus dem Hilus bzw. der Subgranularschicht in die Körnerzellschicht hineinwandern und die für die korrekte Positionierung der Körnerzellen wichtig sind. In *Bcl11b* mutanten Mäusen konnten allerdings mit Antikörpern gegen den Glia Marker GFAP lange Radial-Glia ähnliche Fortsätze in der Körnerzellschicht nachgewiesen werden. Das GFAP-Expressionsmuster in den Mutanten und Kontrollen war vergleichbar, so dass mögliche Migrationsdefekte in den *Bcl11b* Mutanten aufgrund eines disorganisierten Radial-Glia-Fasergerüsts unwahrscheinlich sind.

In Übereinstimmung mit der Beobachtung eines erhöhten apoptotischen Zelltods in der Körnerzellschicht der Mutanten weisen diese Befunde darauf hin, dass nicht nur die reduzierte Anzahl mitotischer Progenitorzellen, sondern zusätzlich eine beeinträchtigte Differenzierung der Körnerzellen zu einer reduzierten Neurogenese reifer, funktioneller Körnerzellen im postnatalen Gyrus dentatus beiträgt. Es wäre möglich, dass eine arretierte Differenzierung von unreifen Körnerzellen in den Mutanten den apoptotischen Zelltod und die Eliminierung dieser unreifen, nicht-funktionellen Zellen induziert.

4.2.1 *Bcl11b* beeinflusst die Entwicklung Parvalbumin positiver Interneurone

In *Bcl11b* mutanten Mäusen konnte auch eine signifikant reduzierte Anzahl Parvalbumin positiver Interneurone in der Körnerzellschicht zum Zeitpunkt P30 nachgewiesen werden. Bei diesen handelt es sich um Korbzellen und Kandelaberzellen, die einer Subpopulation inhibitorischer, GABAerger Interneurone zuzuordnen sind (Kosaka *et al.*, 1987; Ribak *et al.*, 1990; Freund und Buzáki, 1996). Die Herkunft der verschiedenen Interneurontypen im Hippocampus ist bisher nicht eindeutig geklärt. Die meisten GABAergen Interneurone stammen von einer Progenitorpopulation aus dem medialen und lateralen Ganglienhügel („ganglionic eminence“) des basalen Telencephalon ab und wandern als unreife Neurone tangential durch den Neocortex in den sich entwickelnden Hippocampus, bevor die hippocampalen Prinzipalneurone gebildet werden (Soriano *et al.*, 1986; Pleasure *et al.*,

2000b). Bcl11b ist nicht im lateralen oder medialen Ganglienhügel exprimiert (Leid *et al.*, 2004; eigene Beobachtungen) und es findet auch keine relevante Emx-1*Cre* vermittelte Rekombination in diesen Regionen statt (Gorski *et al.*, 2002). Somit ist es unwahrscheinlich, dass die reduzierte Anzahl Parvalbumin positiver Interneurone im postnatalen Gyrus dentatus der Mutanten auf eine gestörte pränatale Bildung dieser Interneurontypen im basalen Telencephalon zurückzuführen ist. Interessanterweise konnte speziell für Parvalbumin exprimierende Korbzellen *in-vivo* eine weitere postnatale Neurogenese im adulten Gyrus dentatus nachgewiesen werden, die zu einer funktionellen Integration dieser Neurone führt (Liu *et al.*, 2003c). Und auch *in-vitro* Experimente zeigten, dass Progenitorzellen des adulten Gyrus dentatus nicht nur eine Quelle für weitere Körnerzellen sind, sondern auch GABAerge inhibitorische Neurone bilden können (Vicario-Abejon *et al.*, 2000). Somit wäre es möglich, dass aufgrund der reduzierten Anzahl an mitotischen Progenitorzellen in den Bcl11b mutanten Tieren weniger Parvalbumin positive Zellen aus der tertiären Matrix im postnatalen Gyrus dentatus gebildet werden. Aber auch eine gestörte Differenzierung dieser Interneuronpopulation ist nicht auszuschließen. Da Bcl11b nicht in Parvalbumin exprimierenden Zellen nachzuweisen ist, müsste es sich hier wiederum um einen indirekten Effekt der Bcl11b Mutation handeln.

4.3 Identifizierung potentieller Targetgene von Bcl11b

Die Identifizierung differentiell exprimierter Gene im Hippocampus von Bcl11b mutanten Mäusen mittels Microarrays ergab nur ein Gen, das eine stark reduzierte Expression im Gyrus dentatus der Mutanten zeigt. In der Expressionsanalyse wurde Gewebe von ganzen Hippocampi verwendet. Hierdurch wurden möglicherweise Gene, deren Expression nur im Gyrus dentatus, jedoch nicht in anderen Regionen des Hippocampus, wie etwa in den Pyramidenzellen verändert ist, nicht identifiziert. Eine hohe unveränderte Genexpression außerhalb des Gyrus dentatus würde Unterschiede in der Genexpression, die nur im Gyrus dentatus zwischen Kontrollen und Mutanten vorhanden sind, abschwächen. Gene mit geringen Expressionsunterschieden wurden bei der Datenanalyse herausgefiltert und nicht erfasst.

Bei dem identifizierten Gen handelt es sich um Desmoplakin (Dsp), das für ein Protein der Plakin Familie kodiert. Dsp wird im Hippocampus ausschließlich in den Körnerzellen des Gyrus dentatus exprimiert und seine Expression wird im adulten Gyrus dentatus

aufrechterhalten (Lein *et al.*, 2004). Durch *in-situ* Hybridisierung konnte kein Dsp spezifisches Transkript in den Mutanten nachgewiesen werden. Plakine sind essentiell für die Bildung von Zellkontakten, indem sie zytoskeletale Elemente wie Intermediärfilamente, Aktinfilamente oder Mikrotubuli an Membran-assoziierte Komplexe in Zellkontakten binden (Ruhrberg *et al.*, 1997; Leung *et al.*, 2002; Sonnenberg und Liem, 2007; Jefferson *et al.*, 2004). Desmoplakin ist eine wichtige Komponente von Desmosomen, die hauptsächlich in Geweben, die starkem mechanischem Stress ausgesetzt sind (Epithelien, Herzmuskel), die interzelluläre Adhäsion vermitteln und somit essentiell für deren Stabilität und Integrität sind. Desmoplakin fungiert als ein Adaptorprotein, indem es auf der zytoplasmatischen Seite als Ansatzstelle für Intermediärfilamente dient und diese durch Bindung weiterer Plaqueproteine, die zur Armadillo-Protein Familie gehören (Plakophilin, Plakoglobin), mit Transmembranproteinen verbindet. Bei den Transmembranproteinen handelt es sich um Ca^{2+} -abhängige Glykoproteine der Cadherin-Familie, die mit ihrer extrazellulären Domäne wiederum den Kontakt zur Nachbarzelle herstellen (Getsios *et al.*, 2004; Schmidt *et al.*, 1994; Godsel *et al.*, 2004). Neben desmosomalen Zellkontakten ist Dsp auch in speziellen Adhärens-Kontakten in Mikrogefäßendothelien der Haut und lymphatischen Endothelien nachgewiesen worden, in denen Dsp eine Verknüpfung von Intermediärfilamenten mit dem Aktinfilamentsystem dieses Adhärens-Kontakts schafft (Kowalczyk *et al.*, 1998; Hämmerling *et al.*, 2006).

4.3.1 Mögliche Funktionen von Desmoplakin bei der Morphogenese des Gyrus dentatus

Interessanterweise scheint Dsp außerhalb der Körnerzellschicht des Gyrus dentatus keine Expression in anderen Gehirnstrukturen zu zeigen (Lein *et al.*, 2004). Bisher ist auch nichts über spezifische Funktionen von Dsp (oder desmosomalen Zellkontakten) bei Entwicklungsprozessen im Nervengewebe bekannt, sondern ihr Vorkommen und ihre Funktionen sind hauptsächlich für Epithelien und den Herzmuskel beschrieben worden.

Welche Funktionen könnte Desmoplakin bei der Morphogenese des Gyrus dentatus im Zusammenhang mit dem Phänotyp der Bcl11b mutanten Mäuse haben? Der Verlust von Dsp in den Bcl11b Mutanten könnte die Ausbildung stabiler, funktioneller Zellkontakte zwischen den Körnerzellen verhindern, was in Einklang mit der in den Mutanten beobachteten veränderten Verteilung der Körnerzellen steht. Zellkontakte sind nicht nur essentiell für die Integrität und mechanische Stabilität von Zellverbänden, sondern regulieren auch die Zugänglichkeit von Signalmolekülen, die in den Zellkontakten

lokalisiert und bei der Steuerung fundamentaler Entwicklungsprozesse wie Zellproliferation, Differenzierung und Morphogenese involviert sind. Das in Adhärenskontakten lokalisierte Armadillo-Protein β -Catenin reguliert beispielweise den canonical/Wnt Signalweg, deren Signale sowohl bei der Morphogenese des Gyrus dentatus als auch bei der Regulation der adulten Neurogenese eine wichtige Rolle spielen (Li und Pleasure 2004/2007; Lie *et al.*, 2005). Lef1, ein Transkriptionsfaktor des canonical/Wnt Signalwegs, ist beispielsweise nicht nur essentiell für die pränatale Bildung des primären Radial-Glia-Fasergerüsts, sondern auch für die Etablierung der tertiären Matrix im Hilus (Zhou *et al.*, 2004). Im adulten Gyrus dentatus spielen Wnt-Signale eine regulatorische Rolle bei der Kontrolle der neuronalen Spezifizierung der Progenitorzellen und der Proliferation neuronaler Vorläuferzellen (Lie *et al.*, 2005). Darüber hinaus führt eine konditionelle Mutation von β -Catenin in neugeborenen postmitotischen Körnerzellen zu einer beeinträchtigten Dendritenentwicklung während der postnatalen Neurogenese (s. 1.2). Es wird vermutet, dass dieser Effekt auch auf die zytoplasmatischen Funktionen von β -Catenin in Zellkontakten zurückzuführen sein könnte (Gao *et al.*, 2007). Aber auch die Transmembranproteine von Zellkontakten, Cadherine, haben neben ihren adhäsiven Funktionen auch essentielle Bedeutungen bei der Steuerung verschiedener Differenzierungsprozesse, wie z.B. bestimmte Cadherine im Nervengewebe das Neuritenwachstum regulieren (Colman, 1997; Bekirov *et al.*, 2008; Vleminckx und Kemler, 1999). Signalfunktionen für Proteine desmosomaler Zellkontakte werden auch für Plakoglobin (γ -Catenin) angenommen, das eine sehr enge Verwandtschaft zu β -Catenin zeigt, mit denselben Molekülen wie β -Catenin interagieren kann (z.B. Tcf/Lef1) und somit in der Lage ist, in den Wnt/ β -Catenin Signalweg einzugreifen (Zhurinsky *et al.*, 2000; Merriam *et al.*, 1997; Huelsken und Birchmeier, 2001; Yin und Green, 2004).

Durch ihre Fähigkeit mit Komponenten des Zytoskeletts zu interagieren sind Plakine nicht nur am Aufbau von Zellkontakten beteiligt, sondern können auch dynamische Prozesse des Zytoskeletts beeinflussen wie sie während der Differenzierung von Zellen erfolgen. Für das Wachstum der Dendriten und Axone ist sowohl der Mikrotubuli-abhängige Transport von Vesikeln in den auswachsenden Zellfortsätzen als auch deren Stabilisierung durch das Aktinfilamentsystem essentiell und erfordert eine ständige Reorganisation beider Filamentsysteme. In *D. melanogaster* existiert nur ein Plakin-Locus (Shortstop). Shortstop Mutanten zeigen Defekte in der Dendritenmorphogenese und in der Ausbildung der terminalen axonalen Verzweigungen (Gao *et al.*, 1999; Prokop *et al.*, 1998). Als Ursache dieser Effekte wird zum einen eine in den Mutanten beobachtete veränderte Verteilung von

Transmembranproteinen entlang der neuronalen Fortsätze angenommen, die das Wachstum der Fortsätze regulieren könnten, sowie Defekte in der Organisation und Polarität der Mikrotubuli, wodurch der axonale Transport beeinträchtigt sein könnte. Auch für Mitglieder der Plakin-Familie in Vertebraten konnten Funktionen bei der Differenzierung von Neuronen gezeigt werden, die auf Interaktionen mit dem Zytoskelett beruhen. Beispielsweise kodiert der Bpag1 Gen-Locus für ein Plakin von dem verschiedene Isoformen existieren. Das epidermale Bpag1 Protein ähnelt in seiner Struktur Desmoplakin und vermittelt die Bindung von Intermediärfilamenten in hemidesmosomalen Zellkontakten. Isoformen von Bpag1, die im Nervensystem exprimiert werden, besitzen zusätzliche Protein-Bindedomänen für Interaktionen mit Aktinfilamenten und Mikrotubuli (Leung *et al.*, 2001; Bousquet und Coulombe, 1996). Mutationen von Bpag1 verursachen eine Degeneration von sensorischen Neuronen (Dystonia musculorum), die eine abnormale Akkumulation von Intermediärfilamenten sowie disorganisierte Mikrotubuli in ihren Axonen aufweisen, weshalb ein defekter axonaler Transport als mögliche Ursache für die neuronale Degeneration vermutet wird (Brown *et al.*, 1995; Guo *et al.* 1995; Liu *et al.*, 2003b; Yang *et al.*, 1999). Die Analyse von konditionellen Dsp knock-out Mäusen zeigte auch für Dsp eine Funktion bei der Organisation des Mikrotubulus-Zytoskeletts während der epidermalen Differenzierung. In diesen Mäusen finden sich Mikrotubuli aggregiert im Zytoplasma anstatt in der Zellperipherie konzentriert (Lechler und Fuchs, 2007).

Es wäre interessant zu überprüfen, ob auch im Gyrus dentatus von Bcl11b Mutanten der Verlust von Dsp die Organisation des Mikrotubulus-Zytoskeletts in den Körnerzellen verändert. Dies könnte möglicherweise die Differenzierung der Körnerzellen beeinflussen, indem beispielsweise der Mikrotubuli-abhängige Transport von Vesikeln in den auswachsenden Zellfortsätzen oder deren Stabilität beeinträchtigt wird. Auch könnte ein Verlust von funktionellen Zellkontakten in der Körnerzellschicht der Mutanten mögliche Signalfunktionen von Komponenten der Zellkontakte wie etwa von Plakoglobin bzw. β -Catenin beeinträchtigen, wodurch die postnatale Neurogenese der Körnerzellen beeinflusst wird.

4.4 Bcl11b mutante Mäuse zeigen Defizite im emotionalen und kognitiven Lernverhalten

Durch verschiedene Verhaltensexperimente konnte ich zeigen, dass die in den Bcl11b Mutanten nachgewiesenen morphologischen Veränderungen im postnatalen Gyrus dentatus mit einem auffällig veränderten Verhaltensphänotyp assoziiert sind. Dieser zeigt für Bcl11b mutante Tiere Defizite im emotionalen und räumlichen Lernverhalten auf. Im Open Field-Test als auch im Elevated Plus Maze konnte eine stark erhöhte horizontale lokomotorische Aktivität bei Bcl11b Mutanten beobachtet werden. Die vertikale Aktivität in Form der Verhaltensweise „Rearing“ war hingegen bei den Mutanten im Vergleich zu den Kontrollen im Open Field signifikant reduziert. Diese Beobachtungen können als eine nicht oder verzögert erfolgende Habituation an die neue Umgebung interpretiert werden und weist auf eine eingeschränkte räumliche Informationsaufnahme und –verarbeitung hin, wie es auch bei Mäusen mit anderen hippocampalen Läsionen zu beobachten ist (Corey *et al.*, 1978). In Verhaltensstudien von W.E. Crusio (1989 a/b/c) wurde gezeigt, dass die Verhaltensweise Rearing im Open Field Aspekte aufweist, die auf das räumliche Lernverhalten der Tiere zurück zu führen sind, und dass ein direkter Zusammenhang zwischen dieser Verhaltensweise und der Hippocampusstruktur besteht. Die Häufigkeit dieser Verhaltenskomponente bei Mäusen im Open-Field korreliert mit morphologischen Variationen (der Größe der Moosfaser-Terminierungsregion) in der Hippocampusstruktur. Im Radial Maze, ein etabliertes Verhaltensexperiment zur Untersuchung Hippocampus-abhängiger Lern- und Gedächtnisprozesse bei Nagetieren (Schwegler *et al.*, 1990; Nadel und McDonald, 1980) war die räumliche Lernfähigkeit der Bcl11b Mutanten stark eingeschränkt gegenüber den Kontrollen. Die Anzahl der fehlerhaft betretenen Arme beim Aufsuchen der Futterbelohnungen war hochsignifikant erhöht und es konnte auch keine offensichtliche Strategie beim Betreten der acht verschiedenen Arme beobachtet werden, wie es bei den Kontrollen der Fall war. Die Aktivität der Mutanten im Radial Maze war im Gegensatz zum Open Field und Elevated Plus Maze sehr unterschiedlich, viele der Mutanten waren wieder sehr hektisch, einige zeigten ein eher zögerliches und ängstliches Verhalten. Bcl11b ist auch in der Amygdala exprimiert (Leid *et al.*, 2004), eine Gehirnregion, deren basolaterale Kerne bei der Regulation des emotionalen Angstverhaltens involviert sind (Davis, 1997; LeDoux, 2000). Eine schwache Emx-1*Cre* induzierte Rekombination ist in der Literatur auch für einige wenige Zellen in der medialen, lateralen und basolateralen Amygdala Region beschrieben (Gorski *et al.*, 2002). Die Untersuchung der Höhenfurcht der Tiere im Elevated Plus Maze zeigte jedoch kein

gesteigertes Angstverhalten bei den Mutanten im Vergleich zu den Kontrollen auf, es ließ sich vielmehr eine Tendenz bei den Mutanten erkennen, öfters die offenen Arme zu betreten als die Kontrollen. Daher ist anzunehmen, dass das eingeschränkte räumliche Lernverhalten der Mutanten nicht die Folge eines abnormalen Angstverhaltens ist, sondern dass es sich hierbei um einen spezifischen Defekt der Hippocampus Funktion handelt. Die Defizite beim räumlichen Lernen bei den Mutanten könnten eine direkte Folge der reduzierten Anzahl an Körnerzellen bzw. der beeinträchtigten Neurogenese im postnatalen Gyrus dentatus sein. Der Gyrus dentatus ist das primäre Eingangstor über den die Hauptafferenzen aus dem entorhinalen Kortex in den Hippocampus einfließen, und die von den Körnerzellen über die Moosfasern an die CA3 Pyramidenzellen weitergeleitet werden. Durch ihre zentrale Position in der tri-synaptischen Erregungsausbreitung innerhalb des Hippocampus sind die Körnerzellen nicht nur an der Kontrolle des Informationsflusses innerhalb des Hippocampus, sondern vermutlich auch direkt an der Verarbeitung und Speicherung von räumlichen Informationen beteiligt (Winson und Anzug, 1977; Jung und McNaughton, 1993). Dies konnte durch Studien bestätigt werden, bei denen die selektive Zerstörung von Körnerzellen bei Nagetieren durch Kolchizin-Mikroinjektionen ein deutlich eingeschränktes Lernverhalten dieser Tiere in Radial Maze und Morris-Water Maze Experimenten zur Folge hatte (McNaughton *et al.*, 1989; Xavier *et al.*, 1999; Walsh *et al.*, 1986; McLamb *et al.*, 1988). Des Weiteren ist bekannt, dass die fortgesetzte Neurogenese im adulten Gyrus dentatus essentiell für spezifische Lern- und Gedächtnisfunktionen des Hippocampus ist, da die gezielte Zerstörung der neurogenetischen Progenitorzellen in Mäusen mit entsprechenden Lerndefiziten in Morris-Water Maze Experimenten assoziiert ist (Dupret *et al.*, 2008; Snyder *et al.*, 2005; Raber *et al.*, 2004).

Darüber hinaus ist nicht auszuschließen, dass die in den Mutanten reduzierte Anzahl an Parvalbumin exprimierenden Interneuronen eine weitere Ursache für das veränderte emotionale und kognitive Verhalten der Mäuse sein könnte. Parvalbumin positive, inhibitorische Neurone haben einen bedeutenden Einfluss auf die Erregungsleitung innerhalb des Hippocampus, indem sie durch Ausbildung extensiver axonaler Verzweigungen eine Vielzahl von Körnerzellen innervieren können. Die Ausbildung inhibitorischer synaptischer Kontakte an der perisomatischen Region der postsynaptischen Neurone erlaubt ihnen eine effiziente Kontrolle über die Initiierung von Aktionspotentialen am Axoninitialsegment und am proximalen Axon der Zielneurone (Freund und Buzáki, 1996; Cobb *et al.*, 1995). Somit könnte eine eingeschränkte inhibitorische Kontrolle der

elektrischen Aktivität der Körnerzellen durch eine reduzierte Anzahl Parvalbumin positiver Interneurone die Weiterleitung und Verarbeitung von aufgenommenen räumlichen Informationen bedeutend verändern.

4.5 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Transkriptionsfaktor Bcl11b essentielle Funktionen bei der Entwicklung des Gyrus dentatus ausübt, indem Bcl11b die postnatale Neurogenese von funktionellen Nervenzellen aus der tertiären Matrix kontrolliert. Es bleibt zu klären, über welche molekularen oder zellulären Mechanismen der Transkriptionsfaktor postnatal die Proliferation, möglicherweise auch das Überleben der Progenitorzellen, aber auch die terminale Differenzierung der unreifen Neurone beeinflusst. Eine Möglichkeit dieser Fragestellung nachzugehen, wäre die Durchführung einer weiteren Expressionsanalyse mit Microarrays zur Identifizierung differentiell exprimierter Gene im Gyrus dentatus von Bcl11b Mutanten. In den konditionellen Bcl11b Mutanten lassen sich die Bcl11b mutanten Zellen nicht direkt verfolgen. Um das Schicksal und den Differenzierungsdefekt der Bcl11b mutanten Zellen besser analysieren zu können, habe ich daher Mäuse hergestellt, bei denen die für die essentiellen Zinkfingerdomänen kodierenden Sequenzen des Bcl11b Gens durch ein LacZ Reportergen deletiert wird. Durch Einkreuzung dieses mutanten Bcl11b-LacZ Allels in die konditionellen Bcl11b Mutanten werden sich die Bcl11b mutanten Zellen auch im postnatalen Hippocampus direkt verfolgen lassen. Dieser Mausstamm bietet die Möglichkeit mit Hilfe der Durchflusszytometrie (FACS = "fluorescence activated cell sorting") differentiell exprimierte Gene direkt in den genetisch markierten, mutanten Körnerzellen zu identifizieren.

Ein weiteres wichtiges Experiment wäre die Untersuchung der Folgen einer Überexpression von Bcl11b entweder in primärer Zellkultur von Gyrus dentatus Gewebe oder durch in-utero Elektroporation. Hierdurch könnte überprüft werden, ob eine verstärkte Expression von Bcl11b eine erhöhte Neurogeneserate von funktionellen Neuronen im Gyrus dentatus induziert, z.B. durch Stimulation der Proliferation oder durch einen verminderten apoptotischen Zelltod. Darüber hinaus wäre es interessant zu untersuchen, ob eine Überexpression von Bcl11b eine unkontrollierte mitotische Aktivität zur Folge hat, die möglicherweise mit der Entstehung von malignen Tumoren assoziiert ist. Auch könnte die Untersuchung der Effekte einer Überexpression/Deletion von Bcl11b unter

pathologischen Bedingungen dazu beitragen, die Funktionen von Bcl11b bei der Neurogenese besser zu verstehen. Durch die Analyse der Folgen einer veränderten Bcl11b Expression in Tiermodellen z.B. für bestimmte neurodegenerative Krankheiten oder auch Epilepsie könnte eine Beteiligung von Bcl11b bei der Entstehung und den Folgen dieser Krankheiten untersucht werden, die mit einem veränderten Proliferationsverhalten der Progenitorzellen des Gyrus dentatus assoziiert sind.

Des Weiteren wäre es interessant, der Frage nach der Funktion von Desmoplakin während der Entwicklung des Gyrus dentatus nachzugehen. Für andere Mitglieder der Plakin Familie sind essentielle Funktionen bei Differenzierungsprozessen im Nervengewebe beschrieben worden, die auf einer Regulation dynamischer Prozesse des Zytoskeletts beruhen und Einfluss auf das Wachstum der neuronalen Fortsätze haben. Die Überprüfung einer Funktion von Dsp bei der Dendritenentwicklung der Körnerzellen könnte beispielsweise durch ein Dsp „knock-down“ Experiment in primärer Zellkultur von Gyrus dentatus Gewebe erfolgen.

Darüber hinaus wären elektrophysiologische Untersuchungen ein weiterer wichtiger experimenteller Ansatz, um den Differenzierungsdefekt der Körnerzellen und die Ursachen des Verhaltensphänotyps genauer zu charakterisieren. Hierdurch könnten die elektrischen Eigenschaften der tri-synaptische Erregungsausbreitung, der Input vom entorhinalen Kortex und die Weiterleitung elektrischer Signale von den Körnerzellen über die Moosfasern an die Pyramidenzellen, in den Mutanten überprüft werden.

Die weitere Analyse und Aufklärung der molekularen und zellulären Mechanismen über die Bcl11b die postnatale Neurogenese im Gyrus dentatus kontrolliert, könnte bedeutende Aspekte grundlegender neuronaler Entwicklungsprozesse aufzeigen. Ein besseres Verständnis der funktionellen Neurogenese im postnatalen Gehirn hat eine wichtige klinische Relevanz bei der Behandlung von sowohl neurodegenerativen Krankheiten als auch schweren Gehirnverletzungen und ist entscheidend für die Entwicklung von Therapie Strategien, bei denen ein verstärkter Verlust funktioneller Neurone durch den Ersatz neuer Nervenzellen kompensiert werden kann.