

5. Zusammenfassung

Die Neurone des dorsalen Rückenmarks integrieren und verschalten sensorische Informationen. Sie entstehen in zwei Phasen der Neurogenese im sich entwickelnden dorsalen Rückenmark. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Funktion des nur in Vorläuferzellen exprimierten bHLH Transkriptionsfaktors Mash1 in der Bildung von dorsalen Rückenmarksneuronen untersucht.

Während der ersten Phase der Neurogenese entstehen an invarianten Positionen entlang der dorso-ventralen Achse sechs unterschiedliche neuronale Subtypen (dI1-dI6) aus sechs angrenzenden Vorläuferbereichen. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß Mash1 die Spezifizierung von zwei der sechs frühgeborenen neuronalen Subtypen (dI3 und dI5) kontrolliert. Mash1 induziert dabei die Expression von Tlx3, einem postmitotischen Selektorgen. In Mash1 mutanten Embryonen exprimieren die eigentlich Tlx3 positiven Neurone fälschlicherweise Transkriptionsfaktoren die für Neurone der angrenzenden Subtypen (dI2 bzw. dI4 und dI6) charakteristisch sind.

Der Grossteil der Neurone des dorsalen Horns entsteht aber während der zweiten Phase der Neurogenese. Zu diesem Zeitpunkt hat sich der Mash1+ Bereich auf fast die gesamte dorsale Vorläuferschicht ausgedehnt. Aus der Mash1+ Domäne entstehen zwei Neuronensubtypen, dILA und dILB Neurone, in einem Salz-und-Pfeffer-Muster. dILA Neurone differenzieren zu GABAergen und dILB zu glutamatergen Neuronen (Cheng et al. 2004). Die beschriebenen Mechanismen die zur neuronalen Diversifikation im Neuralrohr beitragen, beruhen auf der Ausbildung von distinkten Vorläuferdomänen. Diese sind durch die Expression unterschiedlicher Transkriptionsfaktorkombinationen gekennzeichnet. Das führt dazu, daß jede Domäne unterschiedliche neuronale Subtypen bildet (Jessell 2000; Briscoe and Ericson 2001). Ein derartiger Mechanismus liefert jedoch keine ausreichende Erklärung für die Entstehung des Salz-und-Pfeffer-Muster, in dem dILA und dILB Neurone aus einer einzigen Domäne hervorgehen. Ich konnte zeigen, daß dILA Neurone nur aus asymmetrischen terminalen oder nichtterminalen Teilungen entstehen, und daß eine Vorläuferzelle in einer terminalen asymmetrischen Teilung eine dILA und eine dILB Zelle bilden kann. Die Mutation von Mash1 beeinflusst die Bildung und Spezifizierung von dILA, nicht aber dILB Neuronen, obwohl, wie in dieser Arbeit

gezeigt werden konnte, Mash1 in Vorläufern von dILA und dILB Zellen exprimiert wird. Damit Mash1 seine Funktion in der Bildung und Spezifizierung ausschließlich von dILA Neuronen ausüben kann, muss Mash1 asymmetrisch aktiv sein. Ich konnte weiterhin zeigen, daß der Verlust der spätgeborenen GABAergen dILA Zellen zu Defekten des spinalen Reflexbogens und zur Verminderung der Reflexplastizität führt.

Summary

Neurons of the dorsal horn relay and integrate sensory information. They arise in two Phases of neurogenesis in the developing dorsal neural tube. The bHLH transcription factor Mash1 is expressed in the progenitors of dorsal spinal interneurons. In the course of the work presented here the function of Mash1 in the generation of dorsal spinal interneurons was analyzed.

During the first phase of neurogenesis six different neuron types (dI1-dI6) are born from distinct progenitor domains along the dorsal-ventral axis. Here it could be shown, that Mash1 controls the specification of two of these six early born neuron types (dI3 and dI5). Mash1 is required for the induction of the selector gene *Tlx3*. In Mash1^{-/-} mice the dI3 and dI5 neurons acquire characteristics of the adjacently born neuron types.

The majority of dorsal interneurons is born during the second phase of neurogenesis. During the second phase Mash1 expression expands dorsally and the Mash1⁺ progenitor domain gives rise to two types of late born dorsal Neurons (dILA and dILB neurons), which arise in a salt and pepper like fashion. dILA mature into GABAergic neurons whereas dILB neurons give rise to the glutamatergic neurons of the dorsal horn (Cheng et al. 2004). Described mechanisms for neuronal diversification rely on the formation of spatially distinct progenitor domains characterized by the expression of different sets of transcription factors. The different transcription factor sets trigger the specification of different neuron types (Jessell 2000; Briscoe and Ericson 2001). These mechanism is not sufficient to explain the generation of two different neuronal types (e.g. dILA and dILB) from the same progenitor domain. Here I show that dILA neurons are always the product of asymmetric cell divisions, either terminal or non-terminal. dILA and dILB cells can therefore be generated from the same progenitor cell in a terminal division. In Mash1 mutant mice the generation and specification of dILA neurons but not dILB neurons is severely impaired, although Mash1 is expressed in the development of dILA and dILB cells. To account for the observed effects of the Mash1 mutation, Mash1 has to exert its effect in a asymmetric manner effecting only one of two possible fates. dILA neurons mature into the GABAergic neurons of the dorsal horn. I could show, that the loss of GABAergic neurons in Mash1 mutant mice results in defects in spinal reflex circuitry and reduces spinal reflex plasticity.