

15. AUG. 2005

DISS. ETH Nr. 16054

GENE PROFILING OF MOUSE MODELS OF PERIPHERAL NEUROPATHIES

A dissertation submitted to the
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

for the degree of
DOCTOR OF NATURAL SCIENCE

Presented by
GUYA GIAMBONINI (-BRUGNOLI)
Dipl. Natw. ETH
Born March 20, 1975
Cadempino und Gandria (TI)

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Ueli Suter, examiner
Dr. Ned Mantei, co-examiner
Prof. Dr. Stephan Neuhauss, co-examiner

2005

2. Summary

Point mutations affecting *PMP22* can cause hereditary demyelinating and dysmyelinating peripheral neuropathies. In addition, duplication and deletion of *PMP22* are associated with Charcot-Marie-Tooth disease Type 1A (CMT1A) and Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsy (HNPP), respectively. This study was designed to elucidate disease processes caused by misexpression of *Pmp22*, and, at the same time, to gain further information on the controversial molecular function of PMP22. To this end, I took advantage of the unique resource of a set of various *Pmp22*-mutant mice to carry out comparative expression profiling of mutant and wild type sciatic nerves. Tissues derived from *Pmp22*^{-/-} ("knockout"), *Pmp22*^{tg} (increased *Pmp22* copy number) and *Trembler* (*Tr*; point mutation in *Pmp22*) mutant mice were analyzed at two developmental stages: (i) at postnatal day (P)4, when normal myelination has just started and primary causative defects of the mutations are expected to be apparent, and (ii) at P60, with the goal of obtaining information on secondary disease effects. Interestingly, the three *Pmp22* mutants exhibited distinct profiles of gene expression, suggesting different disease mechanisms. Increased expression of genes involved in cell cycle regulation and DNA replication is characteristic and specific for the early stage in *Pmp22*^{-/-} mice, supporting a primary function of PMP22 in the regulation of Schwann cell proliferation. In the *Tr* mutant a distinguishing feature is the high expression of stress response genes. Both *Tr* and *Pmp22*^{tg} mice show strongly reduced expression of genes important for cholesterol synthesis at P4, a characteristic that is common to all three mutants at P60. Finally, I have identified a number of candidate genes that may play important roles in the disease process and/or in myelination *per se*.

3. Sommaro

Mutazioni puntiformi nel gene *Pmp22* possono essere causa di neuropatie ereditare sensitivo-motorie. In aggiunta alle mutazioni, duplicazioni e delezioni del sopracitato gene vengono associate rispettivamente alla malattia demielinizzante di Charcot-Marie-Tooth tipo 1A (CMT1A) e alla paralisi familiare da compressione (Hereditary Neuropathy with Liability to Pressurs Palsy, HNPP). L'obiettivo di questo studio è quello di elucidare i meccanismi che stanno alla base di queste neuropatie e allo stesso tempo di acquisire nuove informazioni sulla controversa funzione molecolare di PMP22. A questo proposito, topi mutanti per il gene *Pmp22* sono stati utilizzati con lo scopo di determinarne il profilo genetico nel nervo sciatico e di compararlo con quello del topo normale.

Tessuti sono quindi stati isolati da topi privi di copie del gene ("knockout", *Pmp22^{-/-}*), da topi con un numero elevato di copie di *Pmp22* (*Pmp22^{tg}*) e da topi *Trembler* (*Tr*; topi con una mutazione puntiforme in *Pmp22*) in due diversi momenti dello sviluppo: (i) a 4 giorni dalla nascita (P4), quando cioè la normale mielinizzazione del sistema nervoso periferico è appena cominciata, con l'intento di identificare le cause primarie delle malattie nelle diverse condizioni elencate sopra e (ii) all'età di 60 giorni con il proposito di ottenere informazioni riguardanti gli effetti secondari delle neuropatie.

I risultati ottenuti in questo lavoro indicano che ognuno dei tre mutanti possiede un proprio preciso profilo d'espressione genetica, suggerendo quindi un differente meccanismo alla base delle tre neuropatie. Nel topo privato di copie del gene *Pmp22* nel primo stadio analizzato (P4) è stato identificato specificatamente un aumento dell'espressione di geni coinvolti nella regolazione del ciclo cellulare e nella replicazione del DNA; questo risultato supporta l'ipotesi di un ruolo di PMP22 nella regolazione della proliferazione delle cellule di Schwann. Una caratteristica invece preponderante nel mutante *Trembler*, e che quindi lo caratterizza, è l'aumento dell'espressione di geni coinvolti nella risposta allo stress. Sempre nel

primo dei due stadi analizzati in questo lavoro un'importante diminuzione dell'espressione di geni indispensabili per la sintesi del colesterolo è stato individuato in entrambi i topi *Tr* and *Pmp22^{tg}* nello stadio adulto (P60); questa caratteristica diventa poi comune a tutti e tre i topi analizzati.

I risultati ottenuti da questo profilo genetico permettono inoltre di identificare un gran numero di geni più generalmente implicati nell'insorgenza, nel decorso della malattia e/o nel processo di mielinizzazione stesso del sistema nervoso periferico.