

DISS. ETH NO. 26539

# THE MULTIFACETED FUNCTIONS OF TDP-43 IN SCHWANN CELLS AND OLIGODENDROCYTES

A thesis submitted to attain the degree of  
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH  
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

SVEN BACHOFNER

MSc ETH Biology,  
ETH Zurich

born on 23.02.1989

citizen of

Zurich ZH, Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Ueli Suter

Prof. Dr. Sabine Werner

Prof. Dr. Claire Jacob

2020

# 1. Summary

TAR-DNA binding protein 43 (TDP-43) is an RNA binding protein, which regulates a broad spectrum of RNA biology. It is mainly implicated in alternative splicing, transcript stability and transport. In the past years, TDP-43 has emerged as a guardian against aberrant retention of intronic sequences into the mature transcript (cryptic splicing). Pathological aggregation of TDP-43 in the cytoplasm of motor neurons, along with its nuclear clearance, is a hallmark of amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a fast progressing, fatal neurodegenerative disease. There are indications that TDP-43 is required in myelination-competent glial cells, and these cells are known to modulate neuronal health. In this study, we investigated the functional role of TDP-43 in both myelination-competent glia, Schwann cells (SCs) and oligodendrocytes (OLs), during development and in adult mice using the Cre/loxP-system.

We show that TDP-43 is required in SCs for timely-onset of developmental myelination and re-myelination after injury. Functionally, TDP-43 is required to repress cryptic splicing in glial *neurofascin*, which enables proper formation of paranodal domains and healthy electrophysiological nerve function. In adult SCs, TDP-43 protects the SC myelinated state and axonal health, with particular emphasis on large calibre axons. Sciatic nerves are less dependent on TDP-43 in SCs than spinal root nerves, particularly in those containing motor axons, and inducible loss of TDP-43 in SCs resulted in milder deterioration than congenital loss. Taken together, we provide evidence that TDP-43 in SCs is essential for the correct organisation of paranodal domains and the long-term integrity of the myelin-axon unit.

In strong contrast, TDP-43 in OLs is critical during CNS development. It ensures progression of differentiated OLs along the correct transcriptional program during early maturation, and proper myelination and protection of the axon-myelin unit in fully mature OLs of the white matter. However, after induced deletion of TDP-43, mature OLs and myelin remained remarkably pertinacious in the white matter of adult mice, at least within the timeframe of our analysis. Furthermore, the dependence of OLs on TDP-43 is region-specific, leading to rapid demyelination and loss of mature OLs in the spinal cord grey matter, which is accompanied by mild reduction in the numbers of motor neurons. Our study collectively indicates that TDP-43 in OLs is indispensable for developmental maturation and – specifically in the spinal cord grey matter – for OL survival and potentially for support of motor neurons in adult mice. Beyond the spinal cord, TDP-43 deletion also impacts OLs residing in various brain regions.

Altogether, our study provides detailed insight into the multi-faceted requirement of TDP-43 in SCs and OLs. The broad spectrum of influence that TDP-43 exerts on SC and OL biology should be taken into consideration in order to thoroughly understand TDP-43 function and dysfunction in the nervous system health and disease.

## 2. Zusammenfassung

TAR-DNA bindendes Protein 43 (TDP-43) ist ein RNA bindendes Protein, welches ein breites Spektrum der RNA-Biologie reguliert. Seine Hauptfunktionen beinhalten die Regulation von alternativem Spleissen, die Regulation von Transkript-Stabilität und dessen Transport. In den letzten Jahren wurde diese Palette erweitert, in welcher TDP-43 zusätzlich als Schutz-Element gegen die fehlerhafte Beibehaltung von intronischen Sequenzen in das verarbeitete Transkript (kryptisches Spleissen) wirkt. In den meisten Fällen von amyotropher Lateralsklerose (ALS), einer tödlichen neurodegenerativen Erkrankung, wird TDP-43 als Teil von pathologischen Anhäufungen im Zytoplasma von Motoneuronen vorgefunden. Es gibt Anzeichen, dass TDP-43 in Schwann Zellen (SZ) und Oligodendrozyten (OL) unabdingbar ist und man weiss, dass diese Zellen einen Einfluss auf das Wohlergehen von Neuronen haben. In dieser Studie untersuchen wir die Funktion von TDP-43 in SZ und OL in Mäusen während der Entwicklung und in erwachsenen Tieren mit dem Cre/loxP-System. Wir zeigen hier, dass TDP-43 in SZ für den rechtzeitigen Start der Myelinisierung während Entwicklung und Regeneration benötigt wird. Funktionell unterdrückt TDP-43 das kryptische Spleissen von *neurofascin* in Glia-Zellen, was für die Organisation der paranodalen Region und Reizleiter-Funktion von peripheren Nerven entscheidend ist. Des Weiteren ist TDP-43 in SZ über längere Zeit unverzichtbar für die Aufrechterhaltung der Myelinisierung und der axonalen Gesundheit, besonders in Axonen mit grossem Durchmesser. Dieser Aspekt war im Vergleich zu Ischiasnerven stärker in den Wurzelnerven ausgeprägt, insbesondere in jenen mit Motor-Axonon. Die genannten Auswirkungen waren drastischer, wenn TDP-43 in SZ von Geburt an fehlte, als wenn die Rekombination in erwachsenen Mäusen herbeigeführt wurde. Zusammengefasst zeigen wir auf, dass TDP-43 in SZ für die korrekte Etablierung der paranodalen Region und die Langzeiterhaltung der funktionellen Axon-Myelin Einheit essentiell ist. TDP-43 ist in OL unverzichtbar für die Entwicklung des zentralen Nervensystems. Es stellt den korrekten Verlauf von differenzierten OL entlang des transkriptionellen Programs während der frühen Reifung sicher und ist in ausgereiften OL in der weissen Materie sowohl entscheidend für die Vollendung der Myelinisierung, als auch für die Erhaltung der Myelin-Axon Einheit. Nach induzierter Rekombination von TDP-43 in erwachsenen Mäusen sind ausgereifte OL und Myelin der weissen Materie jedoch stabil, zumindest innerhalb des analysierten Zeitrahmens. Zusätzlich ist die Abhängigkeit von TDP-43 in OL regionen-spezifisch. Induzierte Rekombination bewirkt Demyelinisierung und den Verlust von ausgereiften OL in der grauen Materie des Rückenmarks, was mit einer leichten Verminderung der Motoneuronen einhergeht. Insgesamt ist TDP-43 essentiell für die OL-Reifung und in erwachsenen Tieren – speziell in der grauen Materie des Rückenmarks – für das Überleben von OL und möglicherweise die Unterstützung von Motoneuronen. Darüber hinaus hat die Elimination von TDP-43 in OL ebenfalls Auswirkungen in verschiedenen Hirn-Regionen.

Im Ganzen bietet diese Studie einen detaillierten Einblick in die facettenreiche Wirkung von TDP-43 in SZ und OL. Das breite Einfluss-Spektrum von TDP-43 auf die Biologie von SZ und OL zeigt, dass diese Zellen für ein umfassendes Verständnis der Funktion von TDP-43 im gesunden und erkrankten Nervensystem in jedem Fall berücksichtigt werden müssen.