

---

Dipl.-Biol. Kolodziej, Angela

### **Role of the chemokine receptor CXCR4 in hippocampal neurogenesis**

Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) and its receptor CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) play a well-established role during embryonic development of dentate gyrus granule cells. However, little is known about the regulation and function of CXCR4 in the postnatal dentate gyrus. This study investigated function and regulation of the CXCR4-receptor in neuronal precursors of the adult hippocampus and in neuronal primary cultures. In-situ-hybridization showed intensive CXCR4-mRNA-expression in numerous cells of the subgranular layer in the adult hippocampus, although little CXCR4-protein was detectable there. This striking mismatch between intense CXCR4 mRNA and limited CXCR4 protein expression developed during the postnatal maturation of the hippocampus simultaneously with a distinct upregulation of SDF-1-expression in the granule cells. This suggested that a high local SDF-1-level caused activation and subsequent downregulation of the CXCR4-receptor in subgranular layer neurons. This hypothesis was corroborated by the finding that a chronic blockade of the CXCR4-receptor by intracerebroventricular infusion of the antagonist AMD3100 induced a dramatic increase of the CXCR4-protein level and thus abolished the described mismatch between receptor mRNA and receptor protein. On this background, the mechanisms of CXCR4-regulation were analyzed in detail in primary cultures out of the embryonic hippocampus. SDF-1-stimulation induced effective internalization of the CXCR4-receptor. Sustained receptor activation lead to a desensitization of CXCR4-signalling and caused a progressive degradation of the CXCR4 protein. The antagonist AMD3100 inhibited activation, internalization and degradation of the receptor. These results suggest that the low CXCR protein level in the hippocampal subgranular layer which was increased by AMD3100 does reflect a tonic activation of the receptor. Infusion of AMD3100 also facilitated detection of CXCR4 protein in bromodeoxyuridine-, nestin-, and doublecortin-labeled cells and showed that the vast majority of adult-born granule cells transiently expressed CXCR4. Chronic AMD3100 administration impaired formation of new granule cells as well as neurogenesis-dependent long-term recognition of novel objects. Therefore, these findings suggest that tonic activation of CXCR4 in newly formed granule cells by endogenous SDF-1 is essential for the survival and functional integration of new granule cells and thus enhances neurogenesis-associated neuronal plasticity that participates in the formation of long-term memory.

---

Dipl.-Biol. Kolodziej, Angela

### **Die Rolle des Chemokinrezeptors CXCR4 in der hippocampalen Neurogenese**

Das Chemokin SDF-1 und sein Rezeptor CXCR4 steuern Migration und Proliferation von hippocampalen Granularzellvorläufern während der Embryonalentwicklung. Die Rolle des CXCR4-Rezeptors im postnatalen Hippokampus ist hingegen ungeklärt. Im Rahmen dieser Arbeit sollten Funktion und Regulation des CXCR4-Rezeptors in neuronalen Vorläuferzellen des adulten Hippokampus und in hippocampalen Primärkulturen untersucht werden. *In-situ*-Hybridisierungen zeigten intensive CXCR4-mRNA-Expression in zahlreichen Zellen der Subgranularschicht (SGS) des adulten Hippokampus, obwohl dort nur sehr wenig CXCR4-Protein dargestellt werden konnte. Dieses Ungleichgewicht zwischen starker mRNA-Expression und schwacher Proteinexpression entwickelte sich während der postnatalen Reifung des Hippokampus. Gleichzeitig nahm die SDF-1-Expression in den Granularzellen stark zu. Dies legte die Vermutung nahe, dass ein lokal sehr hoher SDF-1-Spiegel permanente Aktivierung und anschließende Degradation des in den Subgranularzellen exprimierten CXCR4-Rezeptors verursachte. Diese Hypothese wurde von dem Befund gestärkt, dass ein chronisches Blockieren des CXCR4-Rezeptors durch intraventrikuläre Infusion des Antagonisten AMD3100 eine massive Erhöhung des CXCR4-Proteinspiegels verursachte und damit das oben beschriebene Ungleichgewicht zwischen Rezeptor-mRNA und Rezeptorprotein aufhob. Vor diesem Hintergrund wurden die Mechanismen der CXCR4-Regulation an Primärkulturen aus dem embryonalen Hippokampus näher untersucht. Der CXCR4-Rezeptor wurde durch SDF-1 effektiv internalisiert. Anhaltende Rezeptoraktivierung führte zur Desensibilisierung der CXCR4-Signaltransduktion und zu progressiver Degradation des CXCR4-Proteins. Gleichzeitige Anwesenheit des CXCR4-Antagonisten AMD3100 blockierte Aktivierung, Internalisierung und Degradation des Rezeptors. Diese Ergebnisse stützen die oben aufgestellte Hypothese, dass der geringe CXCR4-Proteinspiegel in der hippocampalen SGS, der unter Antagonistbehandlung stark zunimmt, eine konstitutive Rezeptoraktivierung widerspiegelt. Der CXCR4-Rezeptor konnte in BrdU-, Nestin-, und Doublecortin-positiven Zellen detektiert werden. Es zeigte sich, dass die Mehrheit der adult gebildeten Granularzellen vorübergehend den CXCR4-Rezeptor exprimiert. Die chronische Applikation von AMD3100 inhibierte die Bildung neuer Granularzellen, ebenso wurde die Ausbildung einer Langzeiterinnerung im Objekterkennungstest unterdrückt. Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass der CXCR4-Rezeptor in neu gebildeten Granularzellen durch endogenes SDF-1 tonisch aktiviert wird. Der CXCR4-Rezeptor unterstützt das Überleben und die funktionelle Integration neu gebildeter Granularzellen und fördert so neurogenese-assoziierte Formen neuronaler Plastizität, die an der Ausbildung des Langzeitgedächtnisses beteiligt sind.