

University of Groningen

## Regional diversity in oligodendrocyte progenitor cells

Lentferink, Dennis Hendrikus

DOI:  
[10.33612/diss.165785295](https://doi.org/10.33612/diss.165785295)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2021

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Lentferink, D. H. (2021). *Regional diversity in oligodendrocyte progenitor cells: implications for remyelination in grey and white matter*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.165785295>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

## Nederlandse samenvatting



Dennis H. Lentferink

Department of Biomedical Sciences of Cells & Systems, Section Molecular Neurobiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands.

## Nederlandse samenvatting

In gewervelde dieren huist het centraal zenuwstelsel (CZS) in de schedel en de ruggengraat, daar omvat het respectievelijk de hersenen en het ruggenmerg. De hersenen vormen bewustzijn en gedachten, interpreteren signalen uit de omgeving en spelen een centrale rol in het aansturen van het lichaam. Het ruggenmerg koppelt de hersenen met de rest van het lichaam en is onder andere betrokken bij de totstandkoming van reflexen. Om deze complexe functies te vervullen is het CZS zelf ingewikkeld georganiseerd met grote variatie tussen verschillende gebieden van het CZS. Een bekend voorbeeld hiervan is de scheiding tussen de grijze en de witte stof dat is gebaseerd op kleurverschillen in het weefsel. De grijze stof is, grof genomen, de buitenrand van de hersenen terwijl de witte stof de binnenkant opmaakt. Opvallend genoeg is dat juist andersom in het ruggenmerg. Net als alle andere organen wordt ook het CZS gevormd door verschillende soorten gespecialiseerde celtypen. In het CZS zijn dat, naast zenuwcellen, gliacellen. Gliacellen behouden homeostase en faciliteren het onderhoud en de ondersteuning van de prikkelgeleidende zenuwcellen. Gliacellen zijn ook weer op te delen in verschillende subtypen, te weten in microglia en de macroglia, bestaande uit astrocyten, oligodendrocyten en oligodendrocyt-voorlopercellen (thans afgekort als OVCs). Microglia zijn de immuuncellen van het CZS die het beschermen tegen schade en gevaar. Astrocyten winnen signaalmoleculen en voedingsstoffen terug en ondersteunen zo het metabolisme van andere celtypen. Oligodendrocyten omwikkelen de zenuwvezels van de zenuwcellen met een vetachtige stof genaamd myeline, wat ervoor zorgt dat prikkelgeleiding over zenuwcellen sneller en efficiënter plaatsvindt<sup>2,77,534</sup>. Daarnaast voorzien ze zenuwvezels van voedingsstoffen. Het laatste type gliacel, de OVC, kan uitrijpen tot volwassen oligodendrocyt en zo oligodendrocyten vervangen in het geval van schade en/of celdood. Dit celtype is dan ook van speciaal belang in de chronische demyeliniserende ziekte multiple sclerose (MS). In de hersenen en het ruggenmerg van mensen met MS worden plaatselijk wonden (laesies) gevormd, hier sterven oligodendrocyten af en wordt de myeline afgebroken wat leidt tot plaatselijke demyelinisatie en ontsteking. Deze laesies kunnen overal ontstaan in het CZS. Uiteindelijk leidt de oligodendrocytsterfte en het ontbloten van zenuwen tot zenuwschade en klinische symptomen<sup>7,8</sup>. Waarom myeline wordt afgebroken bij MS is ook na decennia aan onderzoek nog steeds onduidelijk. Tevens is veel onderzoek gedaan naar het lichaamseigen herstelproces na oligodendrocytsterfte:

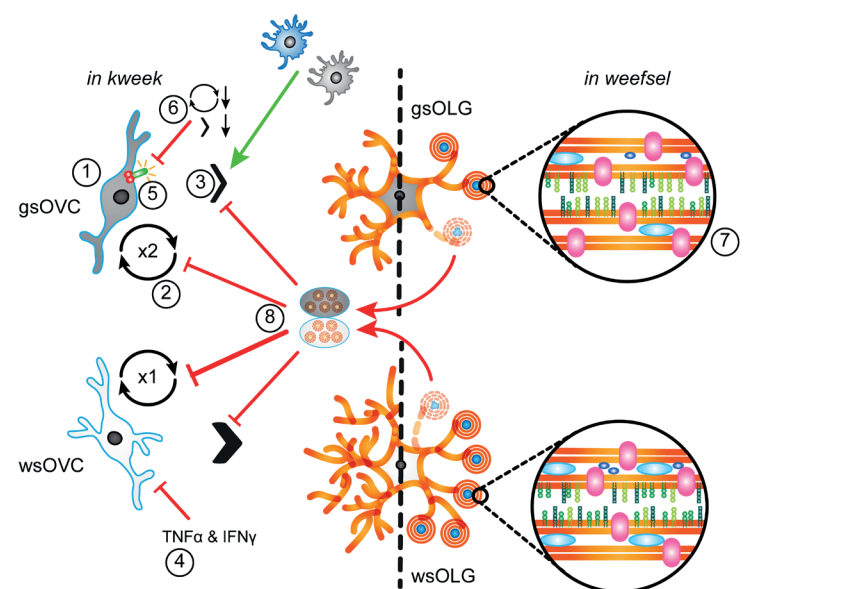
remyelinisatie. Tijdens remyelinisatie verplaatsen geactiveerde OVCs zich naar de gedemyeliniseerde laesie, waar ze vermeerderen en uiteindelijk uitrijpen tot volwassen oligodendrocyten die ontblote zenuwcellen opnieuw van myeline voorzien<sup>3,14-16</sup>. Hoewel remyelinisatie aanvankelijk effectief is, neemt haar efficiëntie af tijdens de latere progressieve fase van MS<sup>3,12,13,93,294,483</sup>. De ontwikkeling van een therapie gericht op het stimuleren van remyelinisatie bij mensen met MS zou ertoe kunnen leiden dat MS-laesies beter herstellen waardoor het ziekteverloop minder snel zou kunnen zijn en/of haar klinische symptomen minder ernstig. Voor de ontwikkeling van een dergelijke therapie is meer kennis van het remyelinisatieproces van groot belang om aanknopingspunten te vinden voor therapeutisch ingrijpen.

Een aantal jaren geleden werd duidelijk dat in de hersenen remyelinisatie meer efficiënt is in de grijze stof dan in de witte stof. Deze opmerkelijke bevinding is zowel gedaan in MS laesies<sup>26,27</sup> als in een experimenteel knaagdiermodel voor de- en remyelinisatie<sup>24,25</sup>. Regionale verschillen in de efficiëntie van remyelinisatie kunnen zowel worden toebedeeld aan lokale verschillen in de ondersteuning van remyelinisatie als aan intrinsieke verschillen tussen lokale cellen. Nu kunnen OVCs van verschillende hersengebieden worden gescheiden op basis van hun celvermeerderingsvermogen<sup>36,37</sup>, uitrijpingsratio<sup>38,39</sup>, reactie op schade<sup>40,41</sup> en neuro-elektrische eigenschappen<sup>37,43,535</sup>. Bovendien kunnen OVCs uit de witte stof (thans afgekort als wsOVCs) even goed uitrijpen tot volwassen oligodendrocyt in de grijze als in de witte stof wanneer ze getransplanteerd worden. Daarentegen blijven OVCs uit de grijze stof (thans afgekort als gsOVCs) minder uitgerijpt, onafhankelijk van de omgeving waarin ze getransplanteerd worden<sup>44</sup>. Dit wijst duidelijk op regionale cel-eigen verschillen. Regionale verschillen in OVCs hebben ongetwijfeld een effect op regionale verschillen tijdens schade en herstel, wat terug te zien zal zijn in ziekten zoals MS. Daarom is het doel van het werk in dit proefschrift om cel-eigen regionale verschillen te achterhalen tussen OVCs uit de grijze en de witte stof, en om te onderzoeken of deze verschillen leiden tot verschillen in gedrag van deze cellen in een experimentele omgeving gelijkend op een MS-laesie. De verkregen kennis draagt bij aan een beter begrip van regionale verschillen in de diversiteit van OVCs en remyelinisatie, en kan leiden tot nieuwe therapeutische aanknopingspunten gericht op het stimuleren van regio-specifieke lichaamseigen remyelinisatie in demyeliniserende ziekten, waaronder MS.




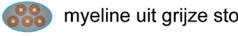


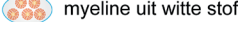



**Hoofdstuk 1** geeft een uitvoerig overzicht van de huidige literatuur betreffende lokale diversiteit in macroglia (oligodendrocyten, haar voorlopercellen en astrocyten) uit de grijze en witte stof van de ontwikkelende en volwassen hersenen, en hoe deze diversiteit kan bijdragen aan regionale verschillen in de efficiëntie van remyelinisatie in zowel MS als in experimentele diermodellen. Hoewel OVCs vlak na de geboorte relatief weinig verschillen in de afschrijving van genen<sup>20,21,34</sup>, ontwikkelen ze later duidelijke verschillen in hun morfologie en functies<sup>36-39,43,84,142-147,535</sup>. In een experimenteel ontsteking-gemedieerd demyelinisatiemodel voor MS worden OVCs divers in de afschrijving van genen wanneer demyelinisatie plaatsvindt<sup>29</sup>. In een experimenteel model voor succesvolle remyelinisatie is gevonden dat OVCs teruggaan in hun rijpheid voordat ze uitrijpen tot volwassen oligodendrocyten<sup>57</sup>. Aan de andere kant is bij MS de afschrijving van genen in OVCs nauwelijks verschillend<sup>20,21</sup>. Daarentegen vertonen volwassen oligodendrocyten meer heterogeniteit in de afschrijving van genen en kunnen zij op basis daarvan worden gesplitst in 6 verschillende populaties<sup>20,21,29,34</sup>. Twee van deze populaties komen verminderd voor in de hersenen van mensen met MS<sup>20</sup>. Opvallend genoeg brengen cellen uit de oligodendrocytlijn (van OVC tot volwassen oligodendrocyt) immuun-gerelateerde genen tot expressie in een knaagdiermodel voor immuun-gemedieerde demyelinisatie<sup>29</sup>. Astrocyten, bekende aanstuurders van remyelinisatie, vertonen ook diversiteit in genafschrijving, functie en uiterlijke kenmerken (morfologie) in de grijze en witte stof. Echter zijn astrocyten in de gezonde hersenen minder heterogeen dan volwassen oligodendrocyten op basis van hun genafschrijvingsprofiel. Anders dan oligodendrocyten laten astrocyten een hoge mate van functionele plasticiteit zien. Dit houdt in dat ze zich voornamelijk aanpassen aan de vereisten van de micro-omgeving in plaats van het bezitten van een cel-eigen diversiteit<sup>113,114</sup>. Dit wordt met name duidelijk op het moment van een demyeliniserende gebeurtenis waar de reactie op, en de aanwezigheid van, moleculaire factoren verschillen tussen de grijze en witte stof<sup>26,255,346,350,536</sup>. Derhalve laten macroglia uit de grijze en de witte stof diversiteit zien, zowel in de volwassen hersenen als na een demyeliniserend incident, wat waarschijnlijk bijdraagt aan de verschillen in de robuustheid van remyelinisatie in de grijze en de witte stof.

In **hoofdstuk 2** werden verschillende parameters die van belang zijn voor succesvolle remyelinisatie onderzocht in gekweekte neonatale OVCs afkomstig uit de grijze en witte stof, waaronder celvermeerderingsvermogen, verplaatsingsvermogen, uitrijpingsvermogen en het vermogen tot het vormen van myelinemembranen. Onze bevindingen tonen aan dat, in een experimentele omgeving, gsOVCs en wsOVCs verschillen op basis van hun rijpheid, morfologie en in hun reactie op omgevingssignalen, waaronder ontstekingsignalen die aanwezig zijn in MS-laesies. GsOVCs maken een minder complex vertakt netwerk van uitlopers (**Fig. 1-1**) en vermeerderen meer wanneer ze worden blootgesteld aan celvermeerderingssignalen vergeleken met wsOVCs (**Fig. 1-2**). Daarentegen rijpen wsOVCs sneller uit dan gsOVCs (**Fig. 1-3**) en schrijven ze genen die kenmerkend zijn voor latere fases van oligodendrocytuitrijping meer af. Daarnaast worden wsOVCs meer aangedaan door de ontstekingsmediator IFN $\gamma$ -gemedieerde remming van celvermeerdering, uitrijping en negatieve effecten op uitlopervertakking, wat versterkt wordt door een andere ontstekingsmediator, TNF $\alpha$  (**Fig. 1-4**). Aangezien OVCs aanvankelijk teruggaan in rijpheid wanneer demyelinisatie plaatsvindt<sup>37</sup> zouden de minder rijpe gsOVCs een voordeel kunnen hebben tijdens remyelinisatie aangezien ze meer ontvankelijk zijn voor signalen betrokken bij de aanvang van het remyelinisatieproces en minder vatbaar voor ontstekingsignalen. De meer uitgerijpte status van wsOVCs zou een voordeel kunnen zijn bij myelinisatie tijdens de ontwikkeling, dat eerder plaatsvindt in de witte stof<sup>537-540</sup>, en bij myelineherschikking in de volwassen hersenen<sup>101</sup>.

Lokaal uitgescheiden moleculaire signalen geven instructies voor OVC-celvermeerdering en uitrijping. DaagsOVCs en wsOVCs verschillen in reactie op deze signalen, is in **hoofdstuk 3** onderzocht of het primaire cilium, een celcommunicatie-antenne die tijdelijk op OVCs aanwezig is tijdens uitrijping<sup>59</sup>, regio-afhankelijk functioneert. Wij laten zien dat in de ontwikkelende hersenen meer cellen uit de oligodendrocytlijn in de cortex, een grijze stof gebied, een primair cilium op zich dragen dan in een witte stof gebied, de corpus callosum (**Fig. 1-5**). Op het moment van toxine-geïnduceerde demyelinisatie neemt het aantal oligodendrocytlijncellen dat een primair cilium op zich draagt toe in de cortex, maar blijft dat gelijk in de corpus callosum. Voorts wordt deze antenne meer en eerder tijdens de uitrijping op gsOVCs gedragen vergeleken met wsOVCs in celkweekmodellen (**Fig. 1-5**). Verstoring



## Legenda

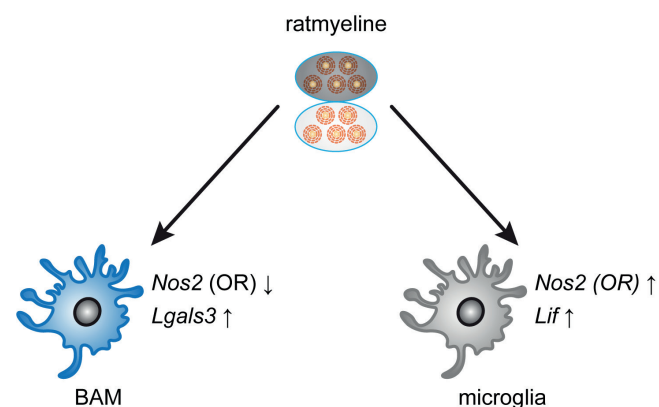
- |   |  |  |
|---|--|--|
|  primair cilium          |  GalCer sulfatide |  MBP        |
|  myeline uit grijze stof |  GM1              |  CNP        |
|  myeline uit witte stof  |  PLP              |  BAM        |
|   |  |  microglia |

**Figuur 1.** Schematische weergave van de sleutelbevindingen in hoofdstuk 2, 3 en 4. (1) Gekweekte oligodendrocyt-voorlopercellen uit de grijze stof (OVCs; gsOVCs) hebben eenvoudiger uiterlijke kenmerken (morfologie) vergeleken met gekweekte OVCs uit de witte stof (wsOVCs) en zijn minder uitgerijpt op genafschrijvingsniveau. (2) Gekweekte gsOVCs celvermeerderen meer dan wsOVCs na blootstelling aan celvermeerderingssignalen. (3) Gekweekte gsOVCs hebben een vertraagde uitrijping vergeleken met gekweekte wsOVCs. (4) Gekweekte gsOVCs zijn minder gevoelig voor ontstekingsstimulerende stoffen (IFN $\gamma$  en TNF $\alpha$ ) die aanwezig zijn in MS-laesies. (5) Het primaire cilium, een celcommunicatie-antenne, is aanwezig op meer oligodendrocytlijncellen uit de grijze stof, zowel gedurende myelinisatie in de ontwikkelende hersenen als in OVC-uitrijping in kweek. (6) Signalen over het primaire cilium zijn betrokken in het aansturen van oligodendrocytlijncellen uit de grijze, maar niet de witte stof. (7) De verhouding van myeline-eiwitten en -lipiden verschilt in de grijze en de witte stof. (8) Myeline is schadelijker voor de celvermeerdering van wsOVCs dan voor gsOVCs in celkweek. (9) De uitrijping van gsOVCs, maar niet wsOVCs, wordt versterkt door signaalstoffen uitgescheiden door microglia en beenmerg-afgeleide macrofagen.

van de vorming van het primaire cilium door het uitschakelen van een essentieel gen (*Ift88*) resulteerde in verminderde celvermeerderingssignaal-geïnduceerde celvermeerdering van gsOVCs en verminderde remming door de signaalstof Wnt3a van de uitrijping van onvolwassen oligodendrocyten uit de grijze stof (Fig. 1-6) maar

niet hun tegenhangers uit de witte stof. Aldus is het primaire cilium onmisbaar voor de regulatie van celvermeerdering en uitrijping van gsOVCs, maar niet van wsOVCs, wat erop wijst dat er een regionale diversiteit is in OVCs in hun reactie op signalen uit de omgeving. De identificatie van signaalherkenningsreceptoren (receptoren) en signaalroutes die gelokaliseerd zijn op het primaire cilium en effect hebben op het gedrag van gsOVCs in normale en pathologische omstandigheden kan bijdragen aan onze kennis van regionale verschillen in remyelinisatie en het falen hiervan.

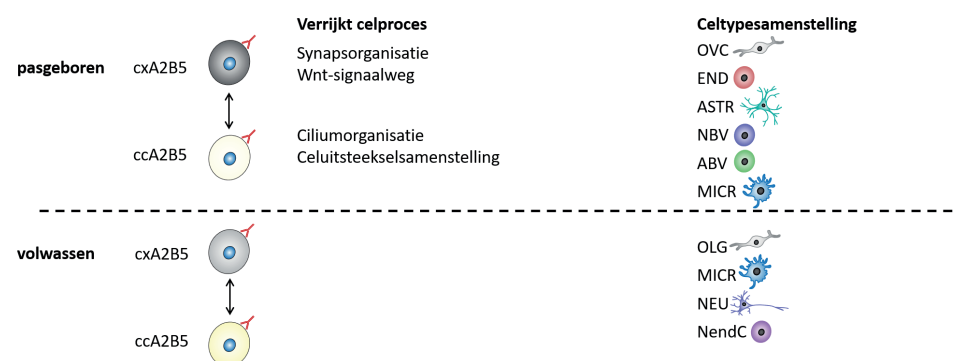
Volwassen oligodendrocyten kunnen gesplitst worden in regionaal diverse groepen<sup>28,34,176</sup> en er bestaat indirect bewijs dat myeline zou kunnen verschillen in de grijze en de witte stof<sup>195,196</sup>. Daarnaast verschilt de samenstelling van myeline uit mensen met MS met dat van gezonde mensen<sup>541</sup>. Tijdens demyelinisatie moeten myelinerestanten worden verwijderd uit de lokale micro-omgeving alvorens succesvolle remyelinisatie kan plaatsvinden, daar myelinerestanten de uitrijping van OVCs verhinderen<sup>51,427,428,472</sup>. Macrophagen die infiltreren vanuit de bloedbaan, en de CZS-eigen microglia, verwijderen myelinerestanten en sturen remyelinisatie aan nadat ze de myelinerestanten hebben opgenomen<sup>52,55,56,521</sup>. Vandaar dat in **hoofdstuk 4** regionale verschillen in myelinesamenstelling van de grijze en witte stof is onderzocht, en wat voor effect dit heeft op OVCs, microglia en beenmerg-afgeleide macrofagen (BAM). Wij laten zien dat de verhoudingen van myeline-eiwitten en -lipiden verschillen in de grijze en witte stof, zowel in rat als in MS (Fig. 1-7). Wanneer OVCs werden gekweekt op een ondergrond van myeline van de grijze of witte stof afkomstig van de rat, werden celvermeerdering en uitrijping geremd. Het remmende effect op celvermeerdering was groter op wsOVCs dan op gsOVCs (Fig. 1-8). Daarentegen had een ondergrond van MS-myeline alleen een remmend effect op de uitrijping van gsOVCs. Blootstelling aan ratmyeline afkomstig van de grijze of witte stof hadden een grotendeels vergelijkbaar effect op BAMs en microglia die daarvoor waren gepolariseerd tot een ontstekingsremmend of ontstekingsstimulerend profiel. Nochtans is de afschrijving van het ontstekingsstimulerende gen *Nos2* verminderd na blootstelling aan ratmyeline in ontstekingsremmend-geactiveerde BAMs, en verhoogd in ontstekingsremmend-geactiveerde microglia (Fig. 2). Blootstelling aan MS-myeline uit de witte, maar niet de grijze, stof hinderde de afschrijving van ontstekingsremmende genen in BAMs. Daarnaast leidde blootstelling aan ratmyeline



**Figuur 2.** Schematische weergave van de sleutelbevindingen behaald met microglia en beenmerg-afgeleide macrofagen in hoofdstuk 4. Afschrijving van het gen *Nos2* is verlaagd in beenmerg-afgeleide macrofagen (BAM) en verhoogd in microglia na blootstelling aan ontstekingsremmende (OR) factoren gevolgd door blootstelling aan ratmyeline uit grijze en witte stof. Daarnaast is de afschrijving van het gen *Lgals3* verhoogd in BAM, en *Lif* in microglia, na blootstelling aan ratmyeline.

uit zowel grijze als witte stof tot verhoogde afschrijving van *Lgals3* in BAMs en *Lif* in microglia (**Fig. 2**), terwijl blootstelling aan MS-myeline nauwelijks de genafschrijving veranderde van factoren die OVC-uitrijping positief beïnvloeden. *Lgals3* en *Lif* zijn bekend om het bevorderen van OVC-uitrijping, en verhoogde afschrijving van deze factoren in microglia en BAMs blootgesteld aan ratmyeline zou OVC-uitrijping kunnen versterken. Het kweken van OVCs in kweekmedium dat eerder was geconditioneerd door deze BAMs en microglia had echter nauwelijks een effect op de uitrijping van gsOVCs en wsOVCs. Daarentegen had BAM-geconditioneerd en microglia-geconditioneerd medium wel een positief effect op de uitrijping van gsOVCs, maar niet van wsOVCs (**Fig. 1-9**). Dus, hoewel een myeline-ondergrond een duidelijk effect had op het gedrag van OVCs, had myeline uit grijze en witte stof een soortgelijk effect op het gedrag van OVCs, BAMs en microglia. Het waargenomen effect op remyelinisatiecapaciteit van de grijze en witte stof is daarom waarschijnlijk slechts minimaal toe te schrijven aan verschillen in de samenstelling van myeline. De verschillende reacties van gsOVCs en wsOVCs op (1) blootstelling aan ratmyeline, (2) BAM- en microglia-geconditioneerd medium, en (3) de verschillende effecten van blootstelling aan ratmyeline op BAM en microglia, duiden erop dat lokaal aanwezige cellen in de gedemyeliniseerde grijze en witte stof belangrijkere determinanten zijn voor de regionale verschillen in remyelinisatievermogen.

Of de waargenomen cel-eigen verschillen in OVCs uit de grijze en witte stof worden weerspiegeld in hun genafschrijving (transcriptoom), en of dit wordt beïnvloed door leeftijd, werd onderzocht in **hoofdstuk 5**. Het antilichaam genaamd A2B5 wordt gebruikt als aanduiders voor OVCs<sup>497</sup> en om voorlopercellen uit het CZS te isoleren die in staat zijn tot remyelinisatie<sup>47,64,491-493,498</sup>. Na het rechtstreeks isoleren van voorlopercellen uit hersenweefsel, gebruik makende van het antilichaam A2B5, vonden wij dat het transcriptoom van A2B5-positieve cellen uit de cortex (cxA2B5) en corpus callosum (ccA2B5) aanzienlijk verschilt vlak na geboorte, en dat dit verschil is verminderd in de volwassen hersenen. Gen-ontologie-annotatie van verschillend afgeschreven genen laat zien dat A2B5-positieve cellen van verschillende regio's en leeftijd betrokken zijn bij verschillende cellulaire processen. Wanneer A2B5-positieve cellen vlak na de geboorte met elkaar vergeleken worden schrijven cxA2B5 meer genen af die betrokken zijn bij de organisatie van zenuwprinkeloverdracht (synapsorganisatie), terwijl ccA2B5 meer afschriften hebben van genen die betrokken zijn bij ciliumorganisatie en -samenstelling (**Fig. 3**). Echter, genafschrijving van cel-specifieke aanduiders en voorspelbare reconstructie (deconvolutie) van de data duidt er op dat A2B5-positieve cellen vlak na de geboorte en in de volwassen hersenen bestaan uit verschillende (verhoudingen) celtypen. Dit bemoeilijkt verdere analyse naar leeftijdsgebonden verschillen. Zo voorspelt deconvolutie dat vlak na de geboorte onder de A2B5-positieve cellen endotheelcellen zijn, en in de volwassen hersenen microglia (**Fig. 3**). Derhalve concluderen wij dat immunoreactiviteit voor het antilichaam A2B5 niet beperkt is tot OVCs en dat dit antilichaam waarschijnlijk andere celtypen bindt in de ontwikkelende en volwassen hersenen. Gebaseerd op genafschrijving vinden wij echter geen verschillen tussen de celtypen die gebonden zijn tussen cortex en corpus callosum binnen de onderzochte leeftijden. Dit duidt erop dat A2B5-positieve cellen wat betreft transcriptoom, en mogelijk functioneel, verschillen in de cortex en corpus callosum tussen beide leeftijden. Toekomstige studies die de ware identiteit van A2B5-positieve cellen uit de grijze en witte stof van verschillende leeftijden onderzoeken, bijvoorbeeld gebruik makende van technieken waarbij genafschrijving in een individuele cel kan worden bepaald en dubbele oormerking met celtype-specifieke aanduiders, kunnen onthullen of A2B5-positieve cellen voorlopercellen zijn, of dat verschillende celtypen uit het CZS het herkenningsmolecuul van A2B5 dragen op hun oppervlakte. Gegeven hun remyeliniserende capaciteiten gaat verder onderzoek naar functionele verschillen



**Figuur 3.** Schematische weergave van de sleutelbevindingen in hoofdstuk 5. A2B5-positieve cellen uit de cortex (cxA2B5) en corpus callosum (ccA2B5), respectievelijk gebieden uit de grijze en witte stof, vlak na de geboorte en van volwassen ratten hebben verschillend afgeschreven genen die betrokken zijn in verschillende celprocessen. Voorspelbare reconstructie (deconvolutie) schat dat A2B5-positieve cellen in de hersenen vlak na de geboorte bestaan uit oligodendrocyt-voorlopercellen (OVCs), endotheelcellen (END), astrocyten (ASTR), neuron-beperkte voorlopercellen (NBVs), astrocyt-beperkte voorlopercellen (ABVs) en microglia (MICR). In de volwassen hersenen bestaan A2B5-positieve cellen uit oligodendrocyten (OLGs), MICR, neuronen (NEU) en neuro-endocriene cellen (NendC). Vlak na de geboorte brengen cxA2B5 schrijven meer genen af die betrokken zijn in synapsorganisatie en de Wnt-siginaalweg wanneer vergeleken met ccA2B5. Die laatste schrijven dan weer meer genen af betrokken bij ciliumorganisatie en celuitsteekselsamenstelling.

in A2B5-positieve cellen tussen regio's en leeftijd bijdragen aan onze kennis over remyelinisatie.

Tezamen dragen de bevindingen die zijn beschreven in dit proefschrift bij aan een groter begrip waarom remyelinisatie meer robuust is in de grijze dan in de witte stof. Onze resultaten in celweekmodellen geven aan dat gsOVCs waarschijnlijk beter uitgerust zijn voor remyelinisatie: gsOVCs zijn minder uitgerijpt en meer ontvankelijk voor signalen uit de micro-omgeving, inclusief die afkomstig van macrofagen en microglia, die remyelinisatie bevorderen. De bevinding dat een hoger percentage gsOVCs dan wsOVCs een primair cilium dragen kan bijdragen aan hun ontvankelijkheid voor extracellulaire signalen. Daarnaast zijn gsOVCs minder reactief na blootstelling aan ratmyeline en minder ontvankelijk voor ontstekingsstimulerende signalen die aanwezig zijn in MS-laesies. Bovendien is na demyelinisatie myeline uit witte stof meer schadelijk voor de celvermeerdering van wsOVCs dan myeline uit grijze stof voor de celvermeerdering van gsOVCs. Ook heeft het gebruik van

het antilichaam A2B5 om cellen uit het CZS te isoleren aangeduid dat er regionale genafschrijvingsverschillen zijn in cellen gebonden door dit antilichaam uit de grijze en witte stof, en dat de verhouding van de celtypen gebonden door dit antilichaam verschillen tussen leeftijd. De meeste experimenten uitgevoerd in dit proefschrift zijn gedaan met neonatale OVCs en myeline uit rat, derhalve zullen toekomstige studies die zich richten op OVCs en A2B5-gebonden cellen uit de volwassen hersenen een licht werpen op hoe celdiversiteit wordt beïnvloed door veroudering in hun eigen respectievelijke omgeving. Opmerkelijk genoeg verschilt oligodendrocytvorming in knaagdieren niet erg van die in mens. OVCs in knaagdieren hebben vergelijkbare celvermeerderingssnelheden en leeftijd-gerelateerde veranderingen in de vorming van oligodendrocyten<sup>542</sup>. Daarnaast is zowel in MS als in knaagdier remyelinisatie meer efficiënt in de grijze stof dan in de witte stof<sup>25,26</sup>. De bevindingen beschreven in dit proefschrift moeten echter nog vertaald worden naar mens of menselijke celmodellen, waaronder het gebruik van primaire humane OVCs uit de grijze en witte stof en geïnduceerde pluripotente stamcel-afgeleide cellen. Daarnaast benadrukken de bevindingen uit dit proefschrift dat OVC-diversiteit, zowel in regio als in leeftijd, in acht moet worden genomen wanneer men experimenten gericht op remyelinisatie verricht. Dit is ook van belang wanneer men mogelijke nieuwe behandelmethoden test om remyelinisatie te bevorderen bij mensen met MS, daar het effect anders kan zijn in de grijze en in de witte stof van de hersenen.