

Befunde aus neuronalen Zellmodellen der bipolaren Erkrankung

Prof. Dr. Sarah Kittel-Schneider

*Department of Psychiatry and Neurobehavioural Science, University College Cork, Ireland
Mental Health Service, South Lee Cork*

HOST INSTITUTION



PARTNER INSTITUTIONS



- Autoren-, Vortrags- und Beraterhonorare in den letzten 3 Jahren für Shire / Takeda und Arzneimittel Pütter GmbH & Co KG
- Autorin für Springer, Thieme, Urban&Fischer
- Mitglied bei DGPPN, ECNP, DGBP, International Marcé Society for Psychiatric Disorders of Childbearing (Co Chair deutsche Sektion seit 05/2023, Vorstandmitglied International Marcé-Society 5/2020), World Federation of ADHD, Eunethydis, Leitung Forschungsreferat der DGBS (01/2021), Schatten und Licht, Co-Chair des ECNP Netzwerks iPSC platform for Neuropsychiatry, seit 10/2022, Hospizverein Würzburg

Wofür brauchen wir humane Zellmodelle psychischer Erkrankungen?

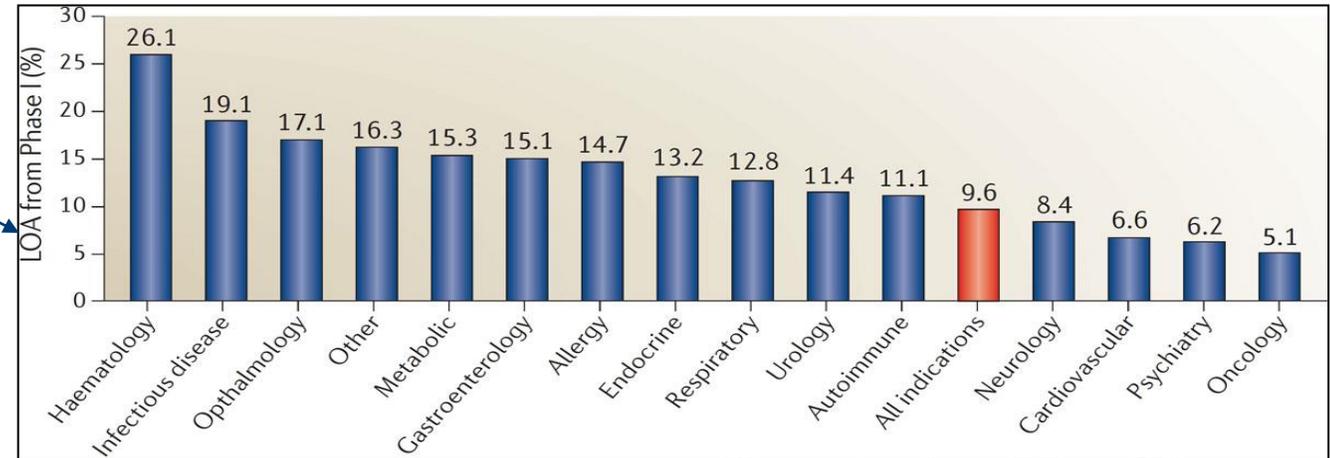
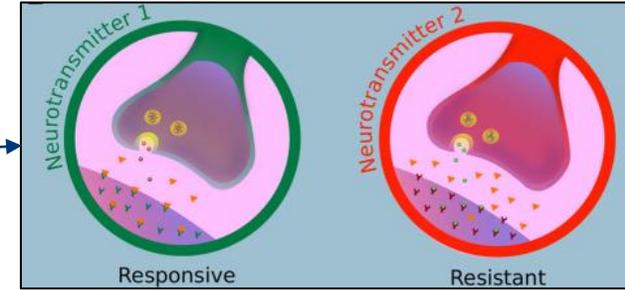
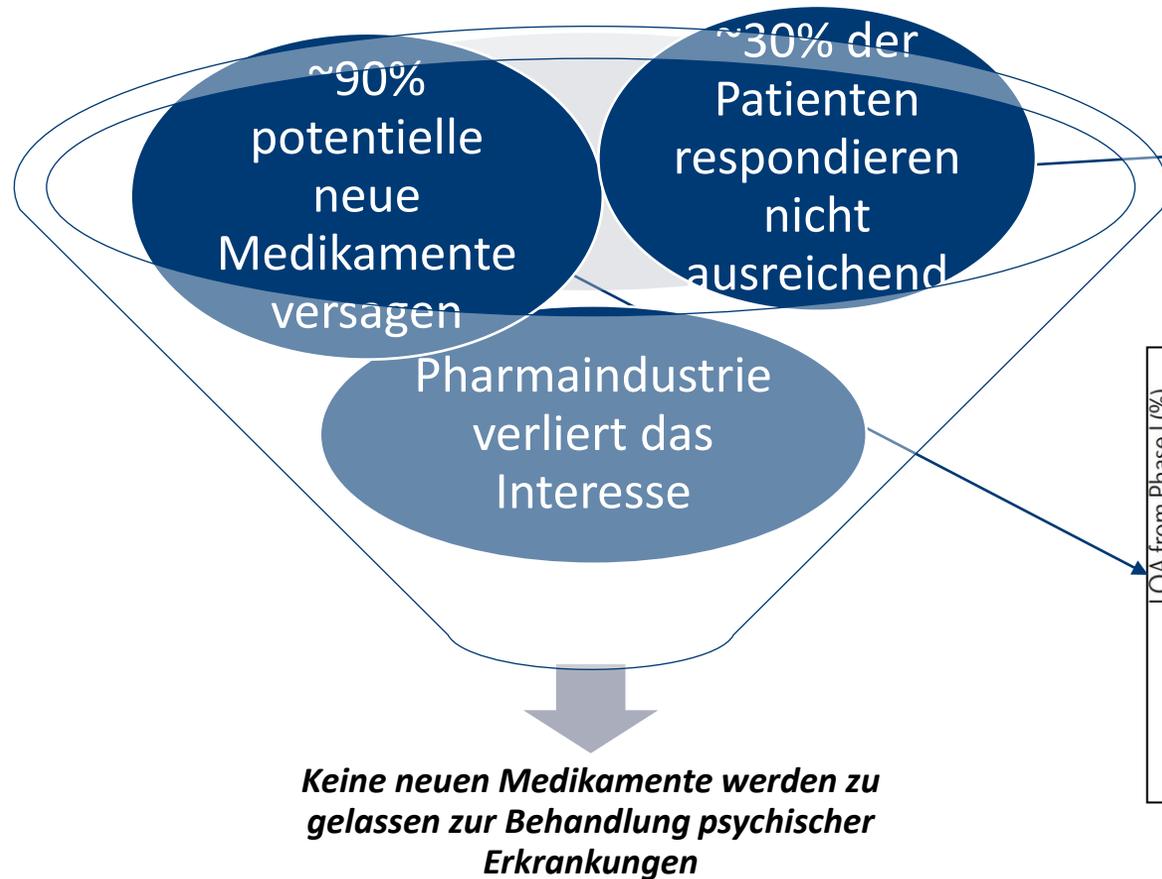
HOST INSTITUTION



PARTNER INSTITUTIONS



Nadelöhr bei der Entwicklung neuer medikamentöser Therapien



Mullard et al., (2016)

Warum sind neue Substanzen nicht erfolgreich, was können wir tun?

Warum sind neue Substanzen nicht erfolgreich?

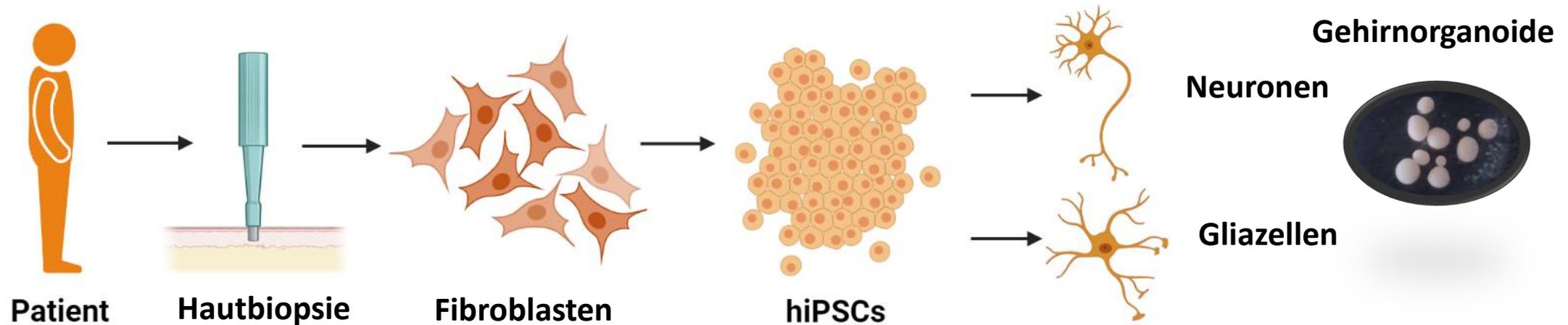
✘ Problem 1:

- **Ätiologie psychischer Erkrankungen noch nicht vollständig aufgeklärt** (Zielstrukturen für Medikamente?)
- Heterogene Phänotypen
- Komplexe genetische Architektur

✘ Problem 2:

- **Mäuse sind keine Menschen**
- Unzureichende Konstruktvalidität
- Aus Tiermodellen gibt es dennoch wichtige Hinweise auf beteiligte Hirnregionen und biologische Signalwege

✓ Lösungsansatz: Vorschalten
eines human-basierten, krankheits-
relevanten Modells, das die
genetische Komplexität widerspiegelt



Wie?

- Reprogrammierung somatischer Zellen zu pluripotenten embryonalähnlichen Zellen = **humane induzierte pluripotente Stammzellen (hiPSCs)**
- Können in jeden Zelltyp differenziert werden



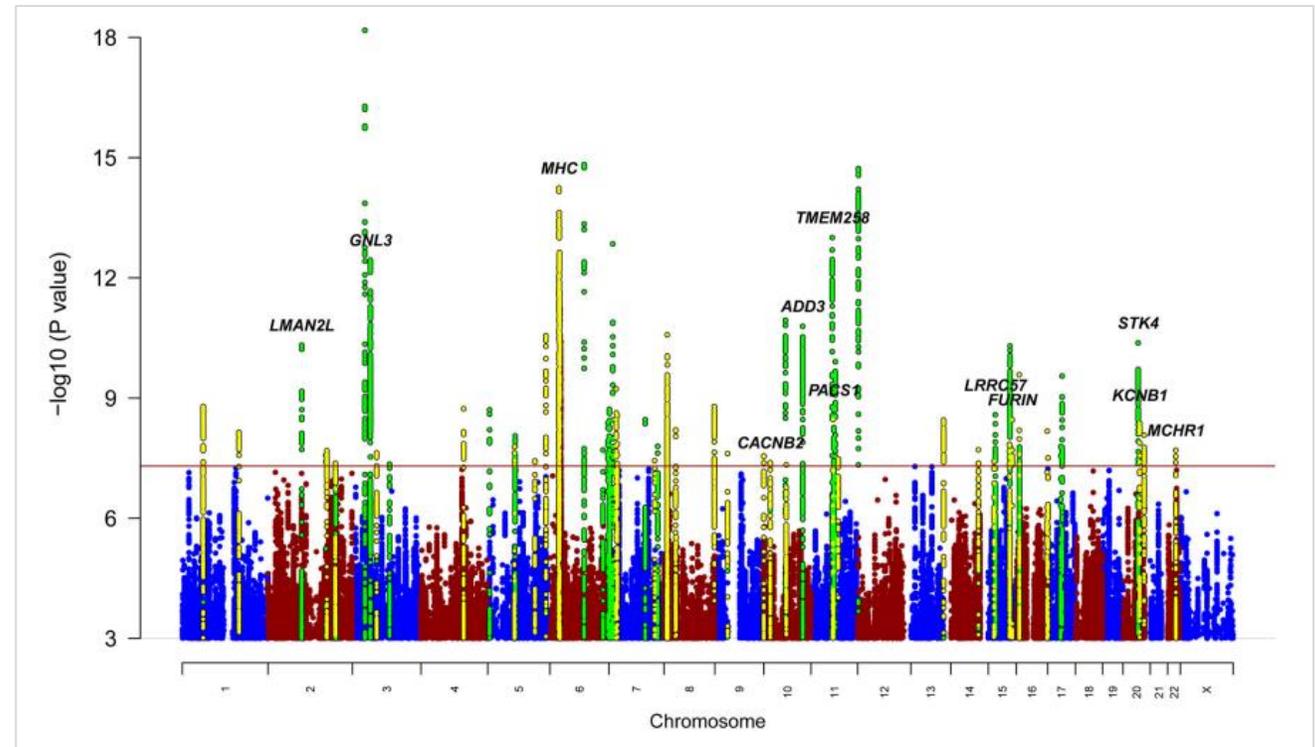
Warum?

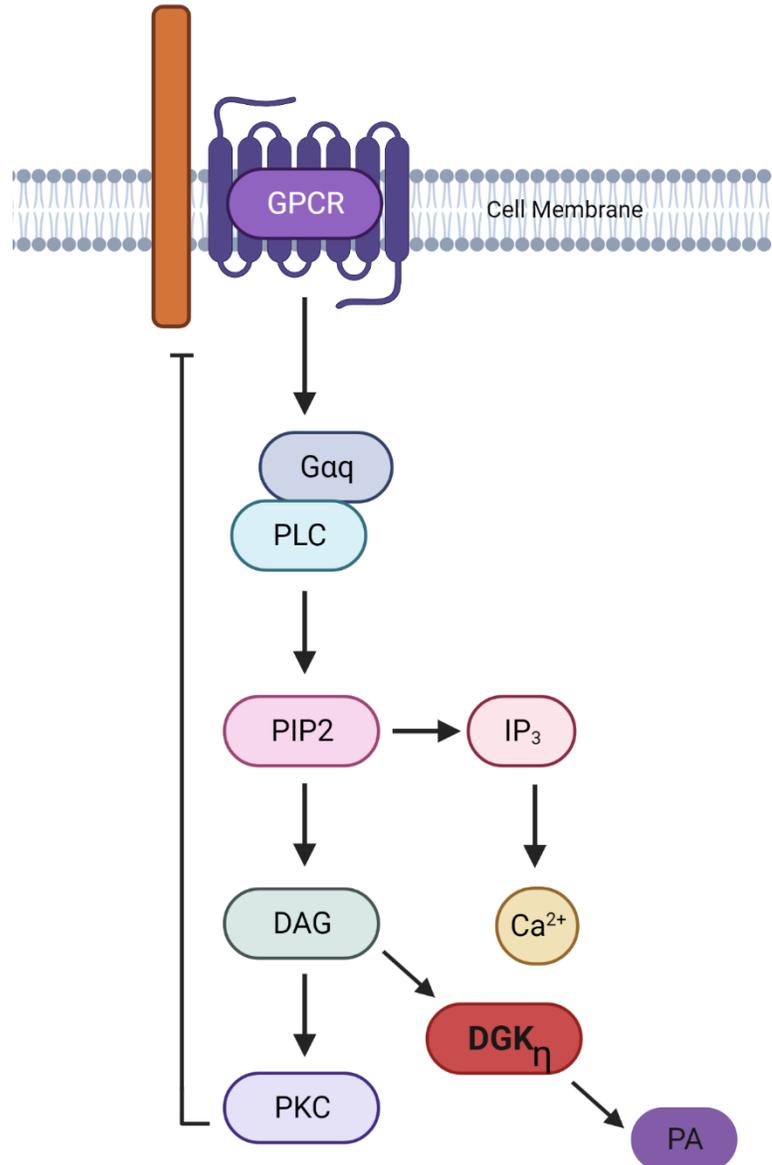
- Primäre Neurone sind schwierig zu bekommen
- Human-basiert
- Rekapituliert die individuelle genetische Ausstattung
- personalisierte Therapie

Vielfältige Genvarianten tragen zur bipolar-affektiven Erkrankung bei

- Viele verschiedene häufige Risikogenvarianten sind identifiziert
- Pathomechanistische Rolle?
- Ansätze für neue Medikamente?
- Personalisierte Therapie von genetischen Subgruppen?

Manhattan-Plot genomweiter Assoziationsstudien





- *Diacylglycerol kinase eta (DGKH)* = Lipid Kinase (DGK_η) ist involviert in Signalübermittlung (Sakane et al., 1997)
- DGK_η spielt eine Rolle in einem **Lithium-sensitiven Signalweg**
- Wurde in GWAS identifiziert (Baum et al., 2008; Weber et al., 2011)
- *DGKH* GAT Risikohaplotyp (Kombination dreier Basenaustausche)

KO-Mausmodelle

- Manisch-artiges Verhalten, verbessert durch Lithiumbehandlung (Isozaki et al., 2016)

Weitere humane Befunde:

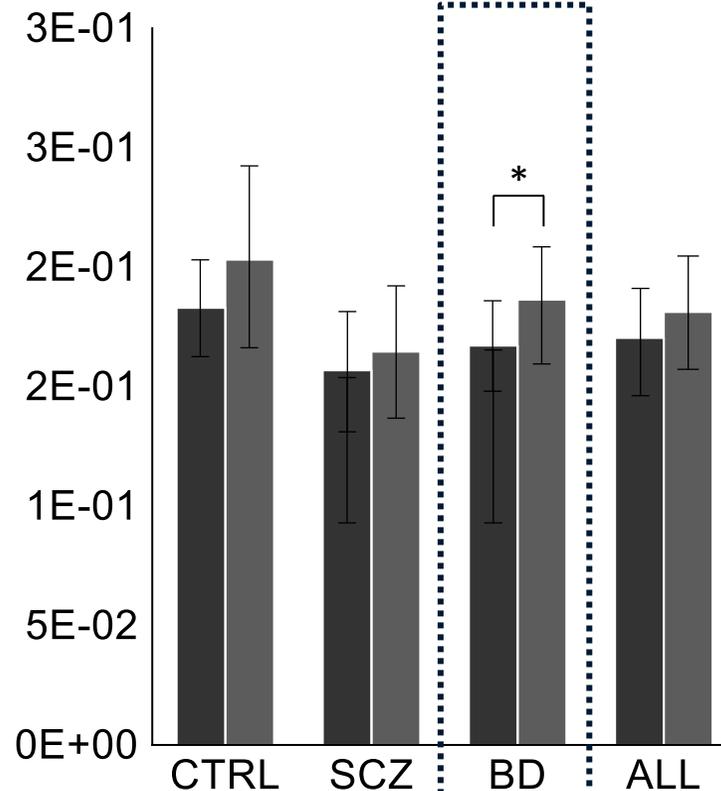
- ↑ *DGKH* mRNA in post-mortem Gehirngewebe bipolar Erkrankter (McCarthy et al., 2019)

DKGH-Risikogenvariante ist assoziiert mit erhöhtem Hirnvolumen

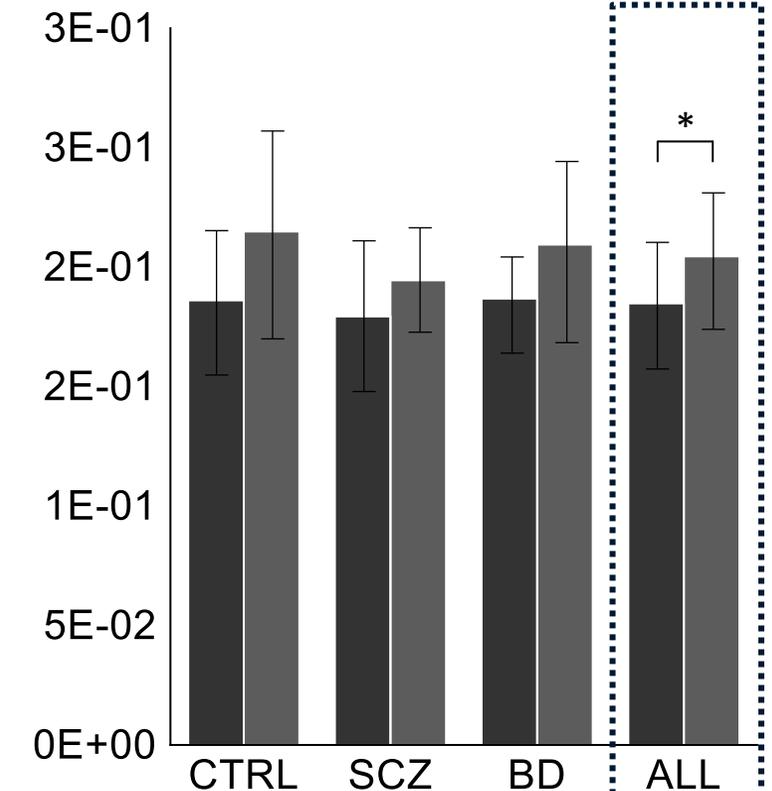
- Polymorphismen von Einzelbasen im **DKGH-Gen** sind mit **bipolarer Erkrankung** und **ADHS** assoziiert
- Und bei bipolar-affektiven Erkrankungen **assoziiert mit Amygdala-Volumina**

Relatives Volumen der Amygdala ermittelt mittels MRT

Linke Hemisphäre



Rechte Hemisphäre

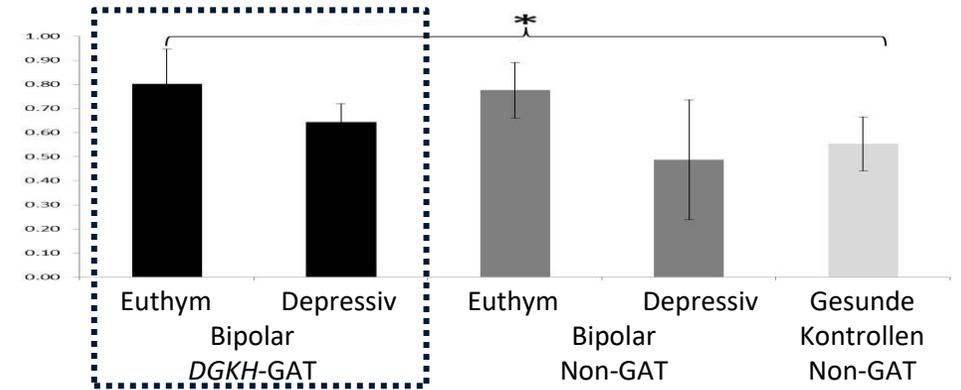


■ No GAT ■ >=1 GAT

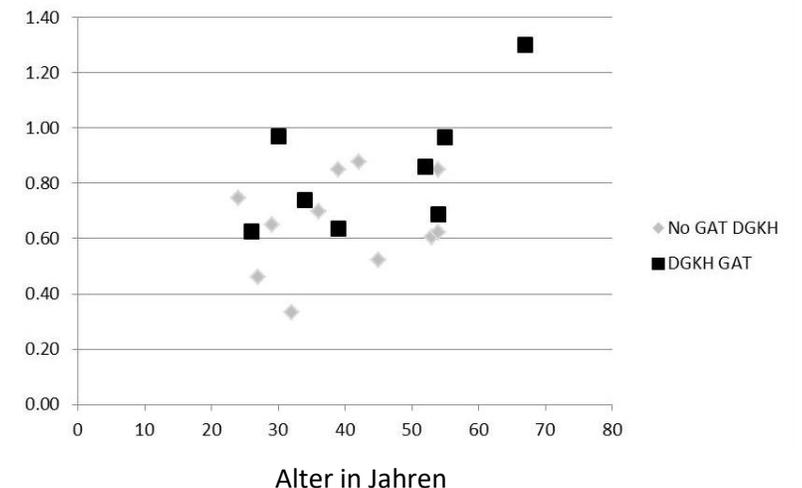
DGKH-Risikogenvariante ist assoziiert mit peripherer Genexpression in Blut und Haut

- *DGKH*-Risikovariante ist bei bipolaren Risikovariantenträgern assoziiert mit
 - erhöhter *DGKH*-Genexpression im Blut
 - erhöhte *PRKCD*-Genexpression in Hautzellen

Normalisierte relative *PRKCD*-Expression



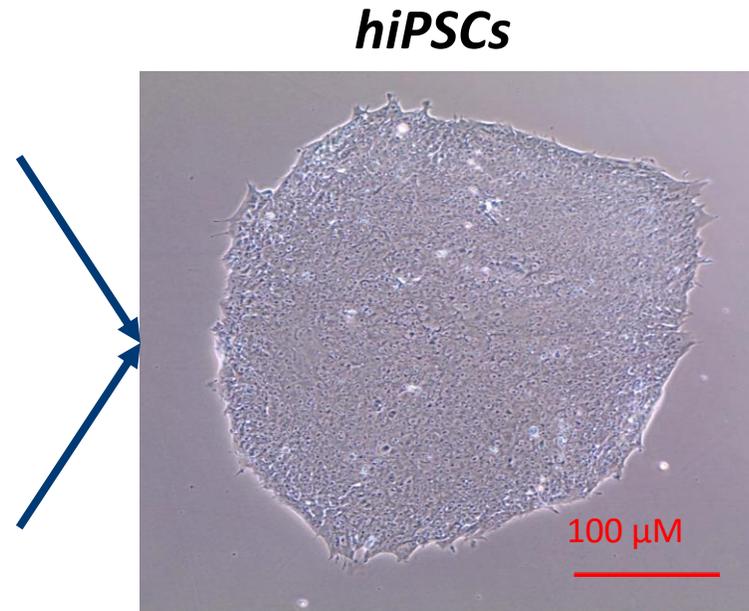
Normalisierte relative *DGKH*-Expression



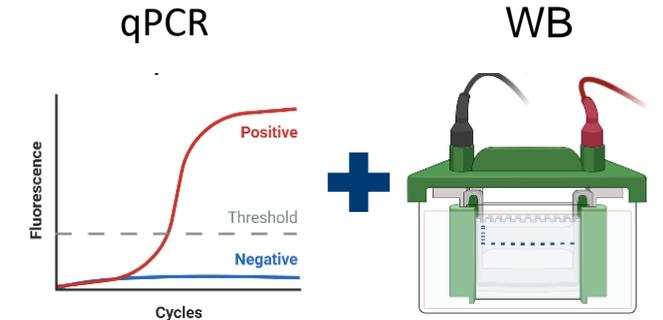
Experimentelles Setup:

Gesunde Kontrollen
▶ *GAT* Träger/kein *GAT*

Bipolare Patienten
▶ *GAT* Träger/kein *GAT*



1. Expression



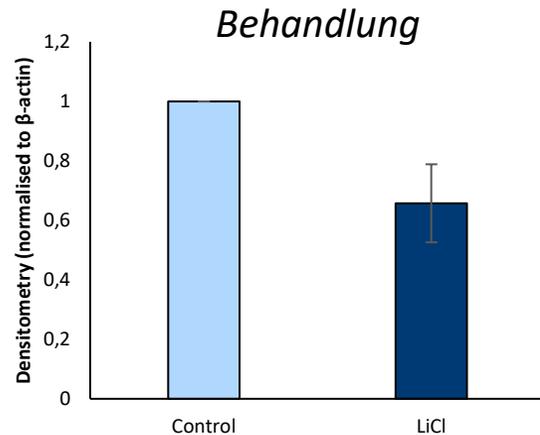
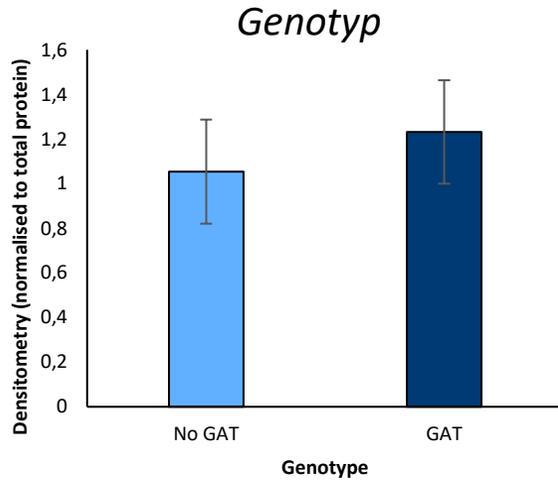
2. Funktion



Ist die Expression und/oder Funktion von DGKH verändert durch die Erkrankung, Risikogenotyp (G/A/T) und/oder Lithium Behandlung?

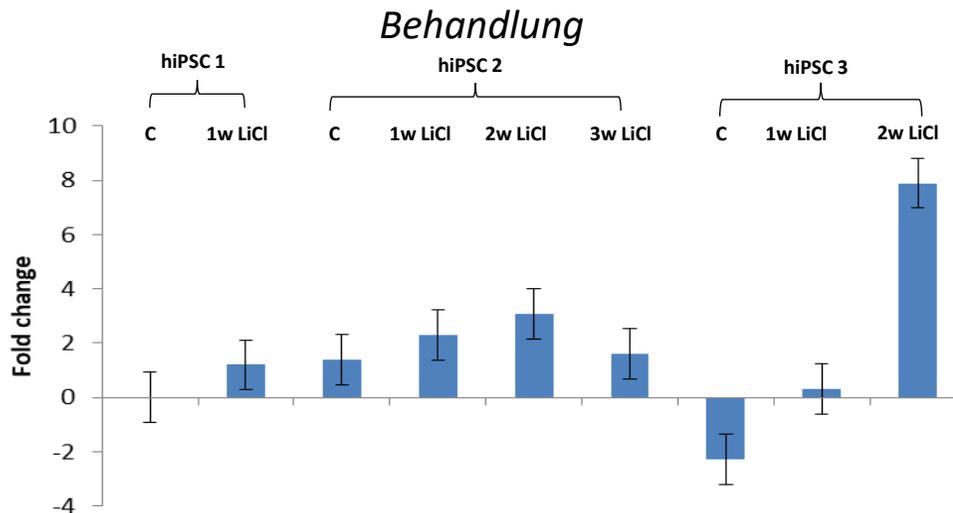
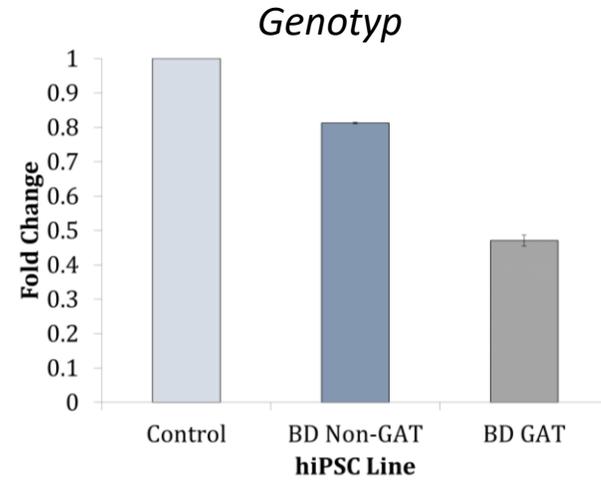
Erste Ergebnisse der DGK η Veränderungen in hiPSC zeigen eine erhöhte Expression aber verringerte Funktion

1. Expression



McNeill, Kittel-Schneider S, unpublished

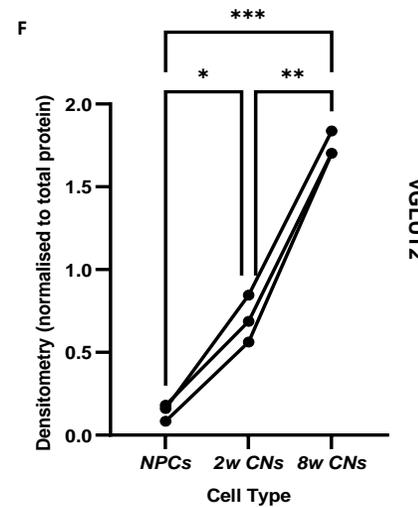
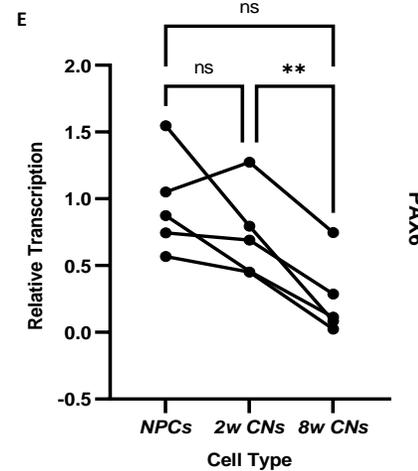
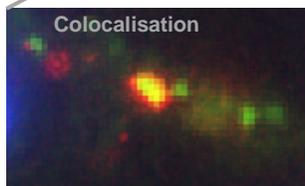
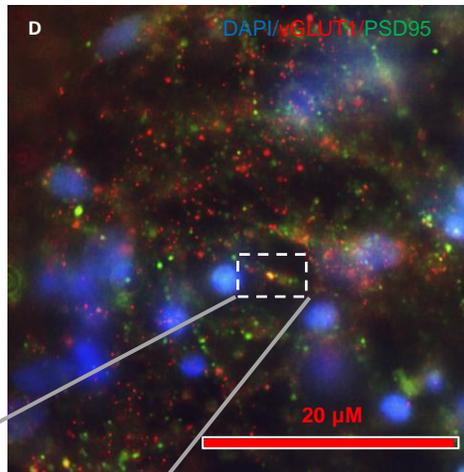
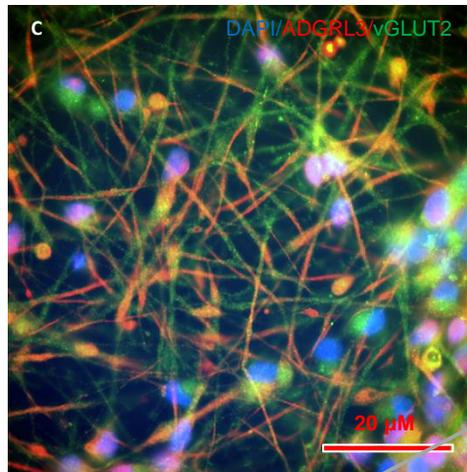
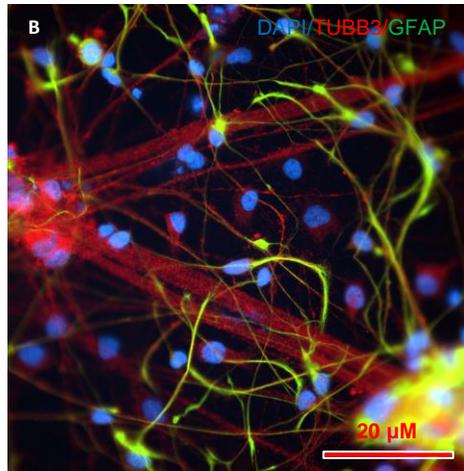
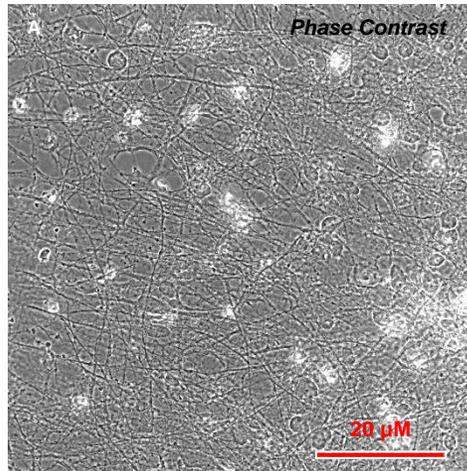
2. Funktion



- GAT Träger
- \uparrow DGK η Expression
- \downarrow DGK η Funktion
- Lithium Behandlung
- \downarrow DGK η Expression
- \uparrow DGK η Funktion

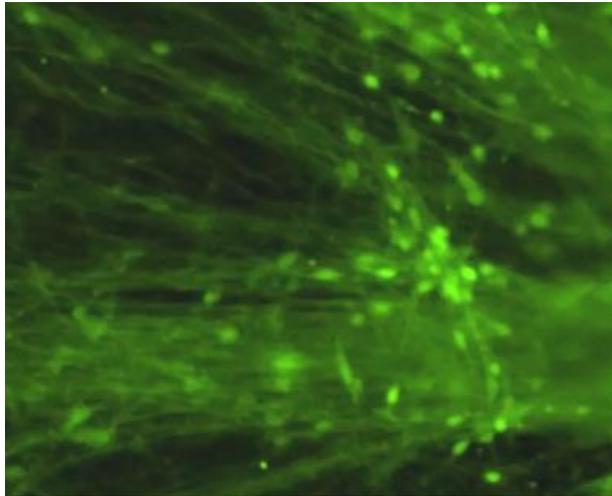
Li führt zu
Umkehrung des
Effekts des GAT
Phänotyps?

Weitere Untersuchungen an kortikalen Neuronen sollen folgen

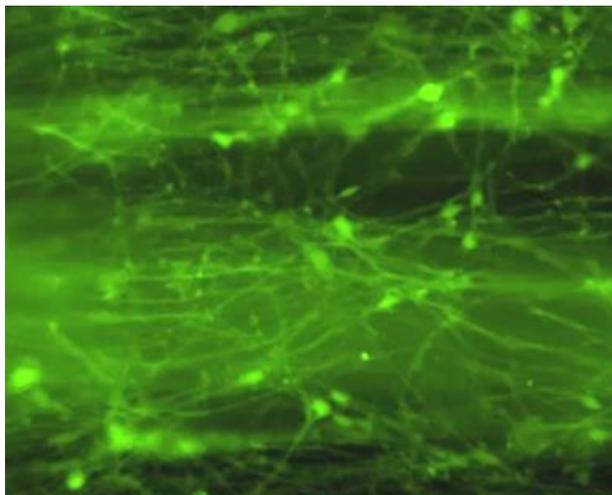


- Etablierung des Differenzierungsprotokolls erfolgt:
 - Extensives Wachstum der Axone
 - Hoher % TUBB3+ neuronalen Zellen, GFAP+ Astrozyten vorhanden
 - Mehrheitlich sind Neurone vGLUT2+ - glutamaterg
 - Prä- und post-glutamaterge kolokalisierte Synapsen Marker
 - ↓ PAX6 = Differenzierung
 - ↑ vGLUT2 = Kortikogenese

Calcium Imaging

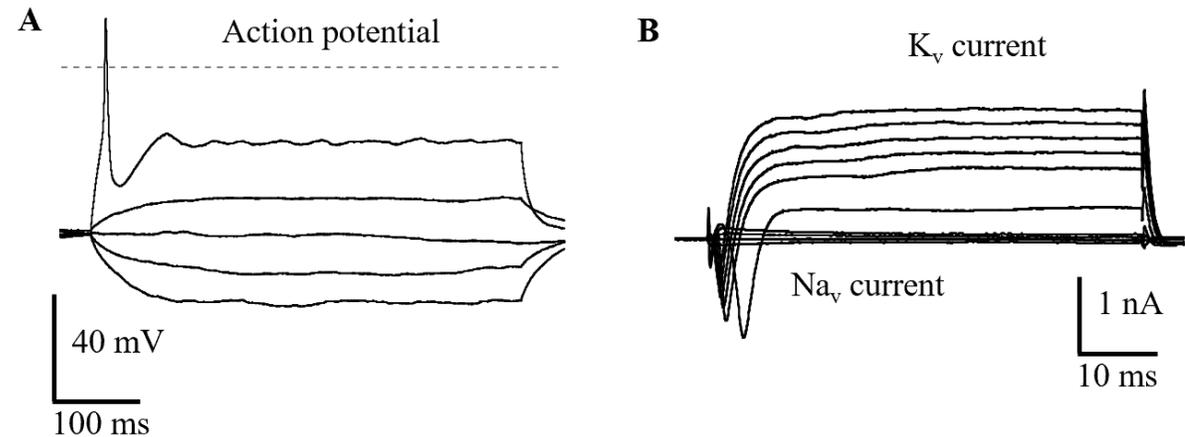


Individual firing



Network burst

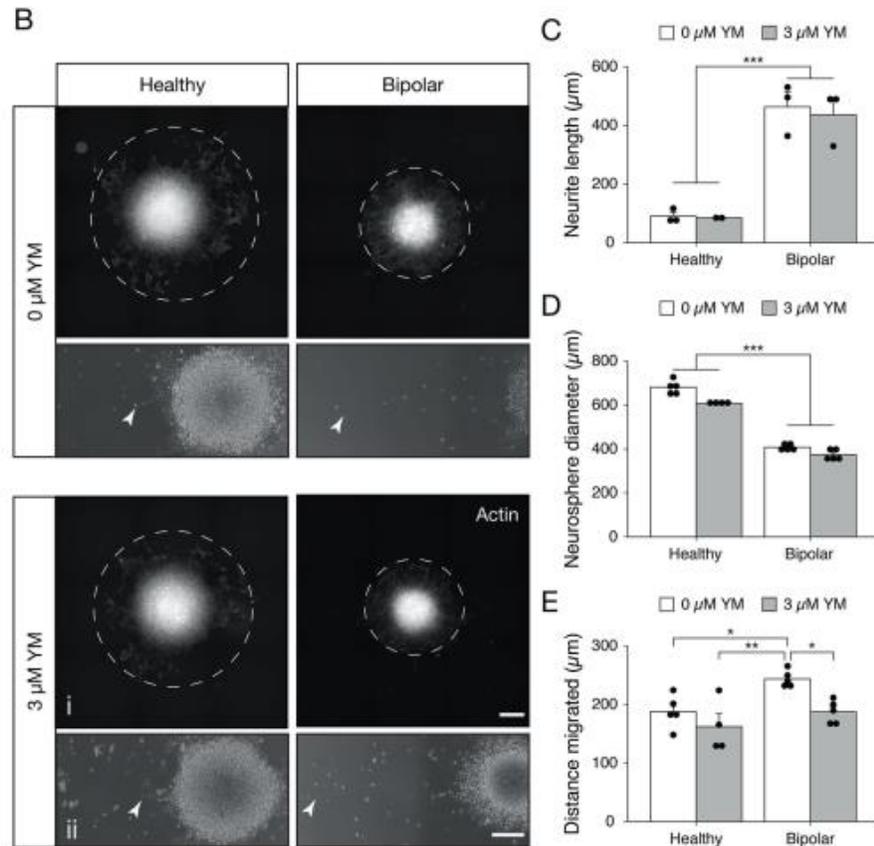
Whole-Cell Patch-Clamp



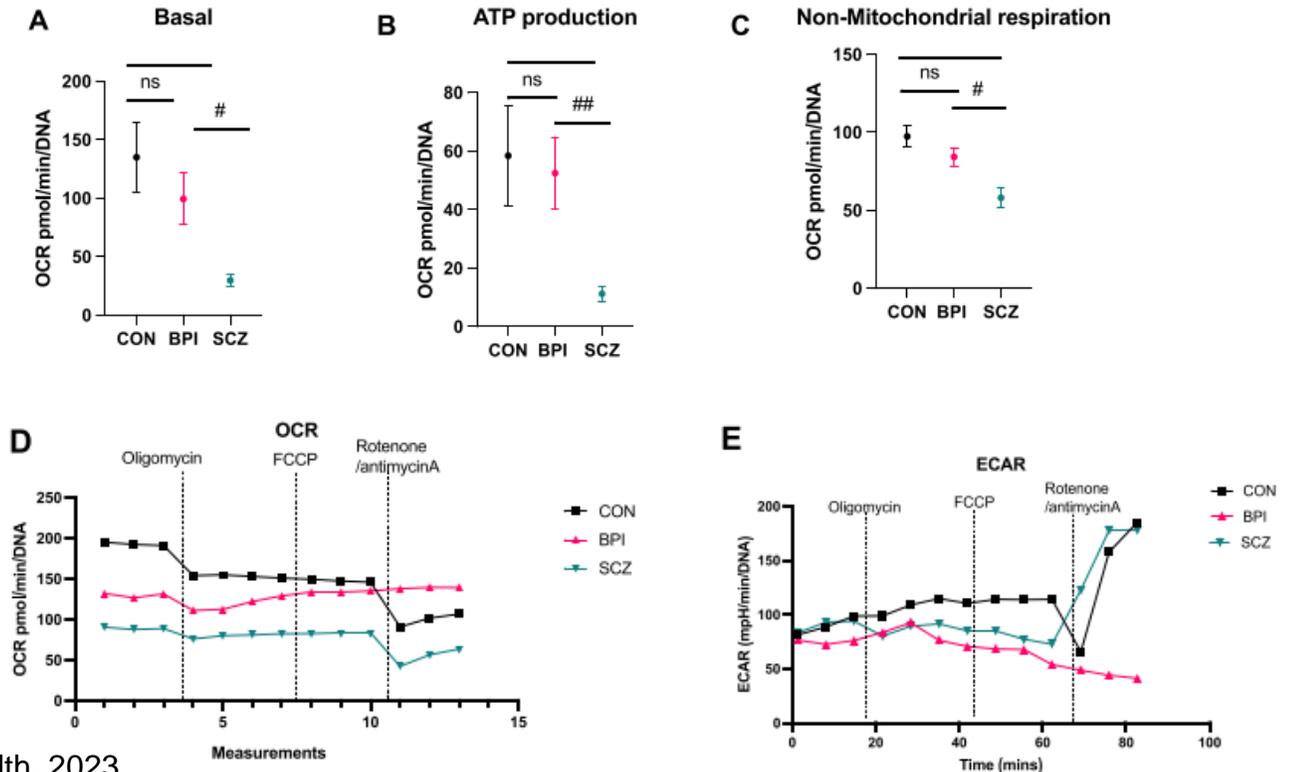
- Calcium imaging = Spontane Entladung und Netzwerk Bursts
- Elektrophysiologie = Bestätigung spontaner APs
- Neuronen sind funktionell reif (Reifungsstadium eines fetalen Gehirns)

hiPSC Modelle der bipolaren Erkrankung können weitere therapeutische Ansatzpunkte liefern

- Neuronale Vorläuferzellen aus hiPSC bipolar Erkrankter zeigen:
 - **Dysregulation im Calciumstoffwechsel**
 - Beschleunigte Differenzierung in Neurosphären



- Gehirnganoide und kortikale Neurone aus hiPSC von bipolar und schizophren Erkrankten zeigen Unterschiede in
 - **Mitochondrialer Funktion**
 - Interaktionen zwischen Mitochondrien und Endoplasmischen Retikulum

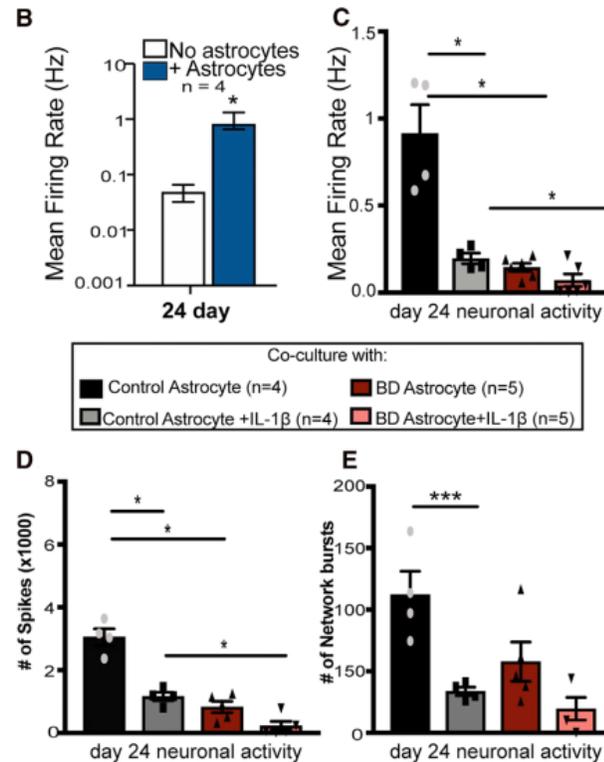
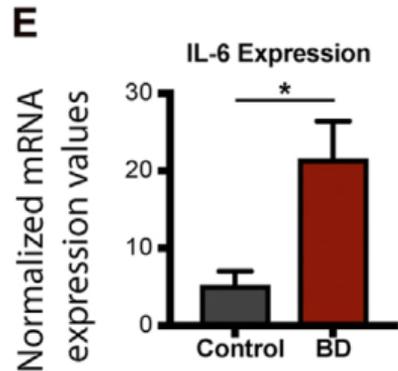


Hinweise für zelluläre Grundlagen von Lithiumresponse und Non-Response

- **Hippocampale Neuronen** (gyrate dentate-like) aus hiPSC bipolar Erkrankter wiesen
 - **mitochondriale Veränderungen** auf (Mt Genexpression, Mt Membran Potential und Mt Größe)
 - **Hyperexzitabilität** (patch-clamp recording und calcium imaging)
 - ***in vitro* Lithium-Behandlung** der Zellen konnte die **Übererregbarkeit abmildern**, aber nur bei Zellen von **Lithiumrespondern**
 - RNAsequencing zeigte passende Veränderungen in Kalium- und Natriumkanalgenen
- Replikationsstudie konnte diese Ergebnisse in einem etwas anderen Zellmodell replizieren (CA3 hippocampale Pyramiden-Neuronen)
 - Eines der co-exprimierten Gene mit *DGKH* ist der **spannungsgesteuerte Kaliumkanal *KCNA1***
 - Veränderte Genexpression für *KCNA1* wurde in **post-mortem Gehirnen von bipolaren Patienten** nachgewiesen und wurde als **potentielles Ziel für antipsychotische Medikamente** im Mausmodell gefunden
 - könnte auch in der **Lithiumresponse** eine Rolle spielen

Nicht nur Neuronen, sondern auch Gliazellen spielen eine Rolle bei der bipolaren Erkrankung

- **Veränderter neuronaler Support und Entzündungsantwort** in Astrozyten aus hiPSC von bipolar Erkrankten



- **Geteiltes Risikogen für Bip und Übergewicht** ist assoziiert mit **glukokortikoid-abhängiger Unterdrückung** der long non-coding RNA Inc-TCF7L2
- Lnc TCF7L2 Knockout in Astrozyten führte zu Veränderungen von Genexpression in Genen, die mit **Insulinstoffwechsel und Diabetes** in Verbindung gebracht werden
- Hinweise für kausale Mechanismen des **Risikos für Übergewicht bei bipolar Erkrankten**

Komplexere Zellmodelle könnten bei komplexeren Fragestellungen helfen

- + Glia-Zellen
- + Bluthirnschrankenzellen (BBB)
- + Darm-BBB –Neuronen-Modelle
-

Patient-derived
iPSCs

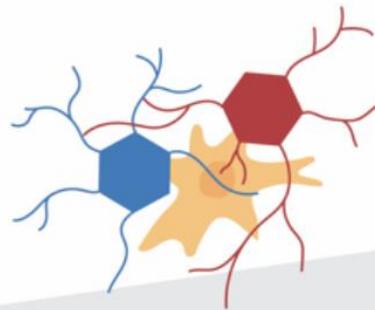


Differentiate
→

Glutamatergic
neurons only



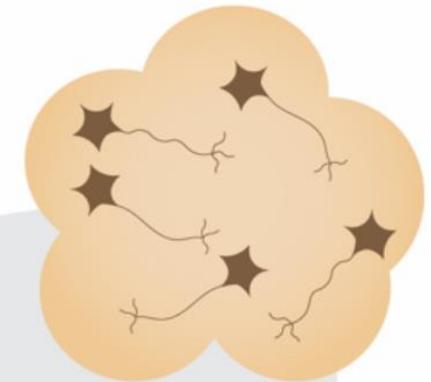
Excitatory/Inhibitory
co-culture



Dorsal-ventral
assembloid



Cerebral
organoid



Hypothesis:

Model complexity

Construct validity ✓

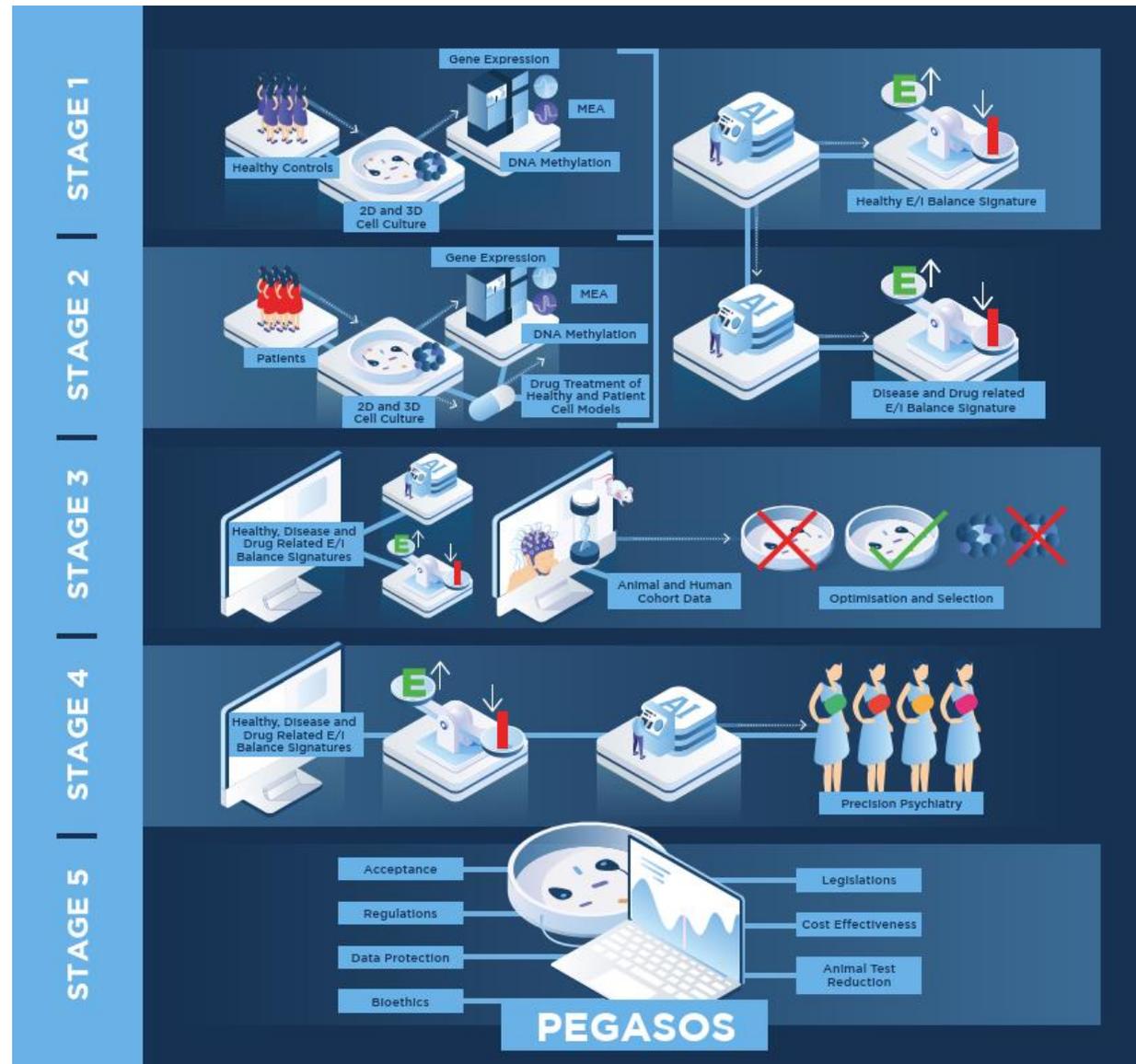
Face validity ?

Predictive validity ?



Ausblick: Platform for integration of human stem cell derived data for precise treatment of mental disorders: PEGASOS

- Integrative bio-digitale hiPSC basierte Drug Screening Plattform
- Ziele:
 - **Schnellere** und **effektivere** Entwicklung von **Medikamenten**
 - **Reduktion** von **Tierversuchen**
 - **Präzisere** Behandlung von **Subgruppen**
- Wird eingereicht für einen EU Horizon Call



Danke!



Ehemalige AG in Würzburg

Zellmodelle und Biomarker

Dr. Rhiannon McNeill
Dr. med. Matthias Nieberler
Dr. med. Franziska Radtke
Nicole Doering (MTA)
Zora Schickardt (PhD)
Medizindoktoranden

Peripartale Psychiatrie

Dr. med. Andrea Gehrman
Freya Lanczik, MSc Psych
Dr. med. Anna Linda Leutritz
Daniela Bürtsch und Christine Blum
(Babylotsen)

Transitionspsychiatrie

Dr. med. Barbara Hütz
Dr. Catherina Klüpfel

Kooperationspartner (Auswahl)

Würzburg

Prof. Dr. med. Marcel Romanos (KJPP)
Dr. Antje Appelt-Menzel (Tissue Engineering)
PD Dr. Robert Blum (Neurologie)
Prof. Dr. med. Stefanie Hahner (Endokrinologie)
Prof. Dr. med. Achim Wöckel, PD Dr. med. Catharina Bartmann (Frauenklinik)
Prof. Dr. med. Christoph Härtel (Kinderklinik)
Prof. Dr. Nurcan Üçeyler (Neurologie)

Frankfurt

Prof. Dr. med. Andreas Reif
Dr. Patricia Trautmann-Villalba
Prof Dr. Andreas Chiocchetti

Cork

Prof. Dr. John Cryan
Prof. Dr. Gerard Clark
Prof. Dr. Patricia Leahy-Warren
Dr. Michelle Hill
Dr. Karen O'Connor

Andere

Prof. Dr. med. Anke Rohde (Bonn)
Dr. med. Susanne Simen (PMU Nürnberg)
Prof. Dr. med. Maria Strauß (Leipzig)
Prof. Dr. Erhard Wischmeyer (Bielefeld)
Prof Dr. Nael Nadif Kasri (Donders Institute, Niederlande)
Dr. Ehsan Pishva (Maastricht, Niederlande)
Prof. Dr. Giuseppa Testa (Mailand, Italien)
Dr. Laura Canceda (Genua, Italien)

Danke an alle Betroffene und Kontrollen!

Funders



PARTNER INSTITUTIONS

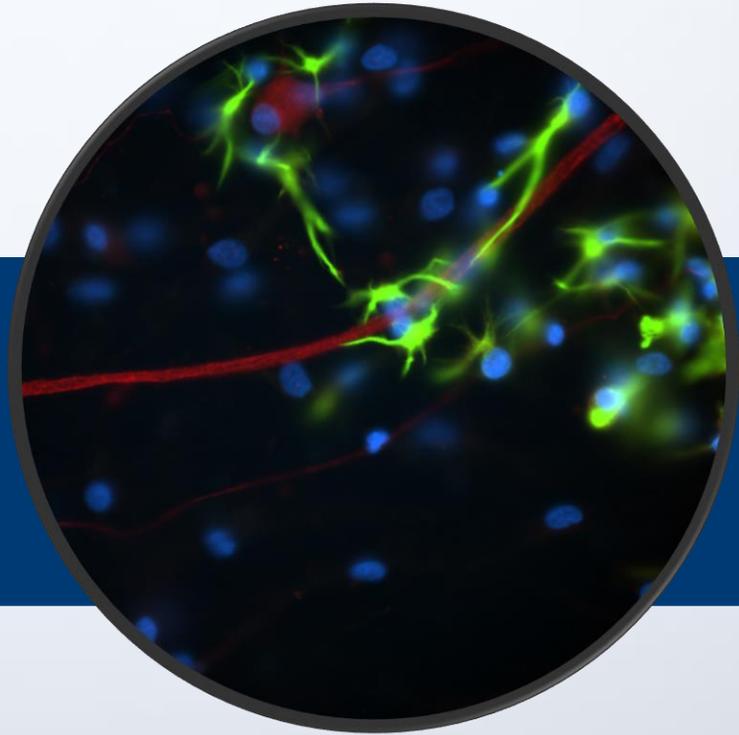


RISEUP-PPD COST ACTION



ConLi+Gen





Fragen

