

# Neurológiai és pszichiátriai betegségek *in vitro* modellezése indukált pluripotens őssejtek felhasználásával: fókuszban az Alzheimer-kór és a szkizofrénia

HATHY EDIT<sup>1</sup>, KÁLMÁN SÁRA<sup>2</sup>, APÁTI ÁGOTA<sup>3</sup>, NEMODA ZSÓFIA<sup>1,4</sup>, RÉTHELYI JÁNOS<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> MTA-SE NAP-B Molekuláris Pszichiátriai Kutatócsoport, Magyar Tudományos Akadémia és Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup> Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pszichiátriai Klinika, Szeged

<sup>3</sup> Molekuláris Sejtbiológiai Kutatócsoport, Enzimológiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

<sup>4</sup> Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>5</sup> Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

Az elmúlt évtizedben új tudományterület kialakulásának lehettünk tanúi, amely a fejlődésbiológia, az őssejtbiológia, valamint a kísérletes és klinikai idegtudományok határvidékén fekszik. *In vitro* betegségmodellezésnek azt a megközelítést nevezzük, amely során a humán őssejtek önmegújító és pluripotens tulajdonságait aknázzuk ki azáltal, hogy egy adott betegség szempontjából fontos sejtípust hozunk létre laboratóriumi körülmények között irányított differenciáltatási protokollok alkalmazásával. A neurológiai és pszichiátriai betegségek esetében ez azt jelenti, hogy idegsejteké differenciáltatjuk az őssejteket a laboratóriumban, majd az adott betegség patomechanizmusában érintett neuronpopulációt specifikus celluláris tulajdonságai mentén vizsgáljuk. Az indukált pluripotens őssejt (induced pluripotent stem cell, iPSC) technológia fejlődésével lehetővé vált, hogy bizonyos genetikai rizikóvariánsokat hordozó páciensek testi sejtjeiből hozzunk létre IPS sejteket visszaprogramozás útján, majd ezeket az őssejteket használjuk fel *in vitro* idegsejt rendszer létrehozásához. A laboratóriumi mérések során kapott eredményeket végül a páciensek klinikai adatainak ismeretében értelmezzük. Ez az őssejtalapú betegségmodellezés alternatív megoldást nyújthat a krónikus neurológiai és pszichiátriai betegségekben többnyire nem kivitelezhető, biopsziás mintavétel hiányára, módszere lehet biomarker-kutatásoknak és gyógyszerfejlesztésnek. Összefoglaló tanulmányunkban két jelentős, központi idegrendszert érintő betegség, az Alzheimer-kór és a szkizofrénia indukált pluripotens őssejt alapú modellezésének irodalmát mutatjuk be és foglaljuk össze.

(*Neuropsychopharmacol Hung* 2016; 18(4): 188–198)

**Kulcsszavak:** indukált pluripotens őssejt, *in vitro* betegségmodellezés, neuronális differenciáció, szkizofrénia, Alzheimer-kór

A humán pluripotens őssejtek, azaz a humán embriónális őssejtek (human embryonic stem cell, HESC) és az indukált pluripotens őssejtek (induced pluripotent stem cell, iPSC) számos orvosi biológiai területen alkalmazott, egyedülálló biológiai modellrendszert jelentenek. A pluripotens őssejt alapú módszerek fontos kutatási eszközökké váltak a fejlődésbiológia, a molekuláris biológia és a molekuláris orvostudomány területén. Kihhasználva azt a tulajdon-

ságukat, hogy a szervezet bármely sejtípusát képesek létrehozni akár laboratóriumi körülmények között is, az őssejteket különböző neuronális sejtípusok előállítására is használhatjuk, és így a neuronok differenciálódási, érési és működési folyamatai válnak laboratóriumi körülmények között tanulmányozhatóvá. Az egészséges, valamint központi idegrendszeri betegségben szenvedő egyének testi sejtjeiből létrehozott sejt vonalak az adott betegség tanulmányozását

is elősegíthetik. Összefoglaló tanulmányunkban arra törekszünk, hogy két központi idegrendszeri betegség, az Alzheimer-kór és a szkizofrénia példáján keresztül bemutassuk az *in vitro* betegségmodellezésnek nevezett kutatás-módszertani irányt.

### ÁLTALÁNOSÁGBAN AZ ÖSSEJTEKRŐL

Az őssejtbiológia hosszabb történetre tekint vissza, melynek csak egyik legújabb fejezetét jelentik az indukált pluripotens őssejtek, azaz a szomatikus sejtekből visszaprogramozott őssejtek. A tanulmány tartalmi és területi korlátait is meghaladja, hogy részletesen foglalkozunk az őssejtbiológia fontos kérdéseivel, itt csak a betegségmodellezés alapjainak megértéséhez fontos eredményeket foglaljuk össze röviden. Őssejteknek általánosságban a szervezetünk önmegújító képességgel bíró, korlátlan ideig fenntartható és differenciálódni képes sejtjeit nevezzük. Különlegességük, hogy szimmetrikus (önmagával megegyező két utódsejt) és aszimmetrikus (egy önmagával megegyező és egy differenciáltabb, érettebb utódsejt) osztódásra is képesek. Megkülönböztetünk potenciáljuk, differenciációs képességük alapján totipotens, pluripotens és multipotens őssejteket. Csoportosíthatjuk őket embrió eredetű és szöveti őssejtekként is. Az embrióeredetű őssejtek totipotensek vagy pluripotensek (Németh és Gócsa, 2014; Yildirim, 2012). Kísérleti alkalmazásuk számos etikai kérdést vetett fel az elmúlt évtizedekben, és különböző országokban eltérő szabályozás született kutatási használatukkal kapcsolatban. A multipotens őssejteket (pl. neuronális progenitor sejt, hematopoietikus, mesenchymalis őssejtek) más néven szöveti őssejteknek nevezzük. Ezek a sejtek egész életünkben jelen vannak szervezetünkben, a homeosztázisban és regenerációban van fontos szerepük, azonban már csak a rájuk jellemző szövetspecifikus irányba képesek differenciálódni, és *in vitro* kultúrában korlátozott ideig, mindössze 5-10 passzázsig tarthatóak fent.

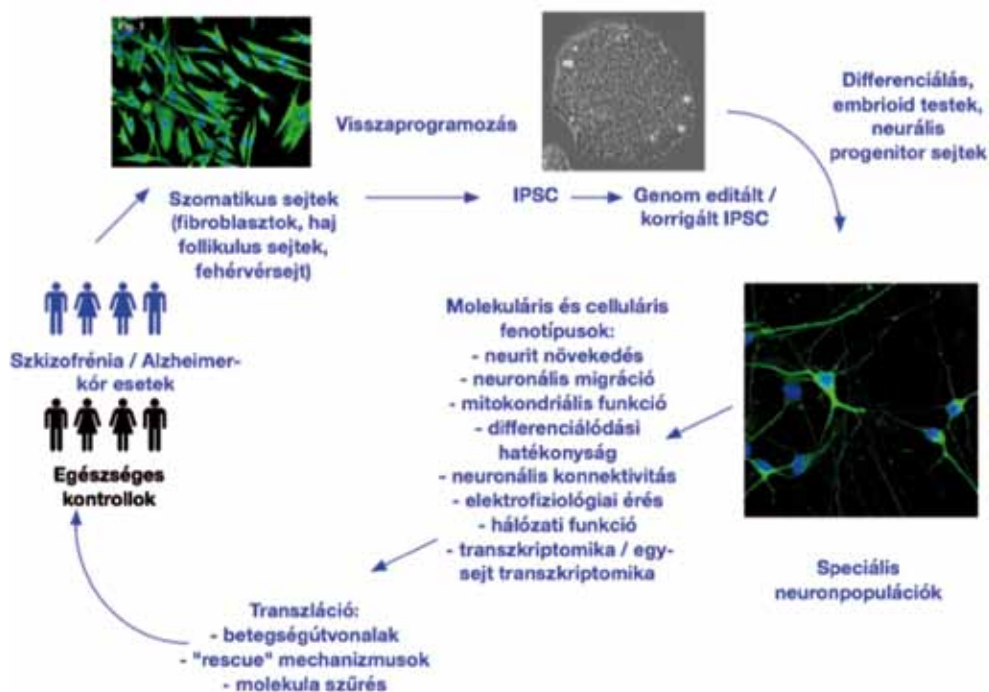
Bár a pluripotens őssejtek kutatása több évtizedre nyúlik vissza, humán vonatkozásban az áttörés csak 1998-ban James Thomson kísérleteivel következett be. Elsőként sikerült blasztociszta stádiumú (mesterséges megtermékenyítés során fel nem használt és megmaradt) zigóta belső embriócsomójából kinyert pluripotens sejtekből stabil humán embrionális pluripotens őssejtvonalat alapítani. Ez az őssejtvonal megfelelt a pluripotens őssejtekkel szemben támasztott követelményeknek: optimális körülmények között képes volt korlátlan ideig osztódni, differenciál-

lan állapotát megtartani, és spontán differenciációs modellben mindhárom csiralemez sejtjeit létrehozni (Thomson et al., 1998). Azóta több száz sejtvonalt alapítottak és bebizonyosodott, hogy az orvosbiológiai kutatások céljaira igen széleskörűen alkalmazható eszközhöz jutottunk, mivel a hólyagcsíra állapotú belső embriócsomóból (inner cell mass. ICM) kinyert sejtekből megfelelően kontrollált mikrokozmoszban egy pluripotens, stabil, könnyen fenntartható, fagyasztható, génszabályozási eljárásokkal módosítható vonalat lehet létrehozni, amely később differenciálható is a kívánt irányba.

2006-ban újabb áttörés történt az őssejtkutatás területén. Shinya Yamanaka és munkatársai először egér, majd egy évvel később humán sejtek felhasználásával bizonyították, hogy differenciált, szomatikus sejtek visszajuttathatók a pluripotens őssejt állapotba négy mesterregulátor transzkripciós faktor (Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4) segítségével (Takahashi és Yamanaka, 2006; Takahashi et al., 2007). A reprogramozásnak nevezett eljárás során differenciált testi sejtekből (pl. fibroblasztokból, fehérvérsejtekből, vagy akár a hajhagyma élő sejtjeiből) indukált pluripotens őssejteket állíthatunk elő a megfelelő transzkripciós faktorok (vírus vagy plazmid expressziós rendszerek révén) sejtbe való bejuttatásával. Az exogén eredetű génexpressziót később a faktorok endogén kifejeződése váltja fel, azaz a sejtek „önszántukból” állnak vissza egy külső lökést követően a pluripotens állapotba (Yamanaka, 2009). Az iPSC technika jelentőségét az adta, hogy vizsgálhatóvá vált a pluripotencia epigenetikai szabályozása, a sejtvonalak alapítása nem igényel humán blasztociszta, valamint megnyílt az út az *in vitro* betegségmodellezés előtt, hiszen a genetikai rizikónak kitett és/vagy a betegség által érintett egyének bőrbioptizálás, vér-, sőt akár vizeletmintájából is létre lehet hozni őssejtvonalakat (Benam et al., 2015; Yamanaka, 2010).

Ez a tanulmány, és általában az *in vitro* betegségmodellezés sem foglalkozik a terápiás célú őssejtkutatással. A sejtterápia célja, hogy pluripotens őssejtből megfelelően differenciált, megfelelő stádiumig eljuttatott sejteket juttasson be a szervezetbe, akár a központi idegrendszerbe terápiás céllal (Kimbrel és Lanza, 2015). Elsősorban a traumatikus agyi és gerincvelői sérülések esetében, illetve a neurodegeneratív betegségekben tekintenek nagy várakozással erre a lehetőségre, ugyanakkor még nagyon kevés a megbízható ismeret a területen, különösen a központi idegrendszeri betegségek tekintetében (Wang és Doering, 2012).

**1. ábra** Az indukált pluripotens őssejtek létrehozásának és az *in vitro* neuronális differenciáltságának és betegségmodellezésnek sematikus modellje



### IDEGSEJTEK LÉTREHOZÁSA HUMÁN PLURIPOTENS ÖSSEJTEKBŐL *IN VITRO* DIFFERENCIÁLTATÁSSAL

Ahhoz, hogy az idegrendszeri betegségek molekuláris mechanizmusait *in vitro* rendszerünkben vizsgálni tudjuk, a pluripotens őssejt állapotból el kell juttatni sejtjeinket az érett, már nem osztódó, posztmitotikus neuronoknak megfelelő érettségi állapotba, differenciáltatnunk kell a sejtjeinket. A differenciálódási folyamat során a sejtek először még osztódó neuronális progenitorokká alakulnak, amelyek az idegrendszer neuronális őssejtjeihez hasonló sejtípust képviselnek. A differenciálódásnak ezen első lépését laboratóriumi körülmények között az „embrioid testecske” állapotban, majd rozettaképződésen keresztül érjük el. A differenciálódás második szakaszában a sejtek érett neuronális identitás irányában köteleződnek el, elvesztik osztódási képességüket, majd nyúlványokat növesztenek, hogy a többi idegsejttel közösen hálózatot alakítsanak ki (1. ábra). Bár a különböző differenciációs protokollok az *in vivo* idegfejlődésről rendelkezésünkre álló ismereteken alapulnak és a kutatási eredmények szerint a neuronok mikroszkopikus, elektrofiziológiai és ingerületátviteli tulajdon-

ságaikban az emberi agy idegsejtjeihez hasonlítanak, nem szabad elfelejteni, hogy ez egy mesterséges modellrendszer, melynek minden tulajdonságát nem ismerjük még pontosan. Az elmúlt évek kutatásai arra utalnak, hogy a laboratóriumi körülmények között előállított neuronok funkcionális értelemben nagyon éretlenek, mind elektrofiziológiai tulajdonságaikat, mind hálózati kapcsolataik tekintetében.

*In vitro* körülmények között nem tudunk (és általában nem is célunk) minden idegsejt típust egyszerre előállítani, hanem célzott protokollokkal speciális neuronpopulációkat szeretnénk létrehozni. Ennek megfelelően külön protokollok léteznek kortikális neuronok, előagyi GABA-erg interneuronok, hippocampális neuronok, középagyi dopaminerg neuronok, vagy gerincvelői motoneuronok *in vitro* előállítására. A különböző protokollok más és más morfogének, növekedési faktorok és kis molekulák alkalmazásával érik el, hogy a kezdetben pluripotens sejtek egy adott irányba differenciálódjanak. Ezek a morfogének *mutatis mutandis* az agyi fejlődés során *in vivo* érvényesülő hatásokat imitálják. A pszichiátriai és neurológiai betegségek modellezése esetében elsősorban az előagyi, telencephalonból kifejlődő agyrészek neuronpopulációi lehetnek érdekesek, mert

**1. táblázat** Az *in vitro* betegségmodellezésben használt legfontosabb neuronális differenciálási protokollok

Modellezett neuronpopuláció	Differenciálási protokoll jellege és hossza	Alkalmazott növekedési faktorok	Publikáció
kortikális glutamaterg neuronok	monolayer, 90 nap után funkcionálisan érett kortikális markereket hordozó neuronok	Noggin, SB431542, reténsav	Shi és munkatársai (Shi et al., 2012a; Shi et al., 2012c)
előagyi GABAerg neuronok	embrioid testecske, majd neuronális progenitorok és neuronok monolayerben, 80 nap	SB431542, purmorfamin, BDNF, GDNF, IGF1 és cAMP	Liu és munkatársai (Liu et al., 2013)
hippokampusz gyurus dentatus neuronok (PROX1-expresszáló szemcses sejtek)	embrioid testecske, majd neuronális progenitorok és neuronok monolayerben (adherens, egyrétegű sejt-kultúra), 70 nap után neuronok	Noggin, SB431542, ciklopamin, Dkk1, FGF2, Wnt3a, AA, BDNF, cAMP	Yu és munkatársai (Yu et al., 2014)
középagyi dopaminerg neuronok	embrioid testecske, majd neuronális progenitorok és neuronok monolayerben, 70 nap	Noggin, SHH és FGF8, AA, BDNF, GDNF, cAMP	Boyer és munkatársai (Boyer et al., 2012)

*in vivo* vizsgálati módszerekkel is ezeknek az agyterületeknek a patológiai (morfológiai) és funkcionális (elektrofiziológiai) eltéréseivel találkozunk a legtöbb neuropszichiátriai kórkép, például demenciák vonatkozásában. Hasonlóképpen több elmélet létezik arra vonatkozóan, hogy a szkizofrénia patológiájának központjában a frontális lebeny interneuronjainak nem megfelelő működése áll (Lewis et al., 2012). A hippokampusz neurogenesis zavarát számos pszichiátriai zavarban, például major depresszióban, illetve szkizofréniaiban is kimutatták. Ezért egy betegség modellezésekor többféle neuronpopulációt is érdemes lehet vizsgálni. Az **1. táblázatban** foglaltuk össze a legfontosabb, illetve leggyakrabban használt irányított neuronális differenciálási protokollokat.

## VIZSGÁLT CELLULÁRIS FENOTÍPUSOK

Módszertani szempontból elmondható, hogy az indukált pluripotens őssejtek létrehozása és differenciálása széles körben alkalmazott laboratóriumi technológiának számít. Az *in vitro* betegségmodellezésben a tényleges kihívást a megfelelő sejt-típus megtalálása és megbízható mérése jelenti. A beteg és egészséges egyénekből létrehozott neuronok esetében, elsőként a sejtek morfológiáját érdemes összehasonlítani. Ebben benne foglaltatik a neuronok nyúlványainak, dendritjeinek, fizikai szinapszisek létrehozó képességének vizsgálata. Lehetőségünk van specifikus gének expressziójának vizsgálatára valós idejű PCR segítségével vagy a teljes transzkriptom felmérésére RNS-szekvenálási technikával, melynek

során a neuronpopulációkra jellemző transzkripciósfaktorokat, strukturális és szinaptikus fehérjéket kódoló gének expresszióját vizsgálhatjuk. A leginkább releváns celluláris fenotípusok funkcionális mérésekkel tárhatók fel. Kalcium-képző technikkával vizsgálhatjuk a neuronális hálózat spontán és receptorligandok hatására megváltozó működését, a sejtek depolarizációját és a kalcium intracelluláris szintjének változását. Patch-clamp elektrofiziológiai mérésekkel az egyes neuronok membránján létrejövő ionáramokat mérhetjük meg. Valós idejű mikroszkóp rendszer segítségével órákon vagy napokon keresztül vizsgálhatjuk a neuronok differenciálódását és a nyúlványok növekedését. Fontos kiemelni, hogy a neuronok természetes éréséhez kulcsfontosságú a szomszédos sejtek kapcsolata, amit *in vitro* differenciálás során nem tudunk biztosítani, ezért erre ko-kultúras tenyésztési módszerek jöhetnek szóba. Emellett humán neuronális progenitor sejteket kísérleti állatok agyába beültetve természetes szöveti környezetben lehetséges vizsgálni fejlődésüket (Yu et al., 2014). Mertens és munkatársainak összefoglaló tanulmánya (Mertens et al., 2016) részletesen foglalkozik a visszaprogramozási technikákkal és a potenciálisan használható *in vitro* celluláris fenotípusokkal.

## SZKIZOFRÉNIA VIZSGÁLATA INDUKÁLT PLURIPOTENS ŐSSEJT ALAPÚ *IN VITRO* BETEGSÉGMODELLEZÉSEL

A szkizofrénia a lakosság 0,8-1,5%-át érintő, súlyos, krónikus lefolyással járó, gyakran munkaképesség-



**2. táblázat** Szkizofrén páciensekből létrehozott iPSC és neuronális sejtvonallakkal történt kutatások. SCZ: szkizofrénia, KNT: kontroll, az idiopátiás jelölést a kromozómális eltérést nem detektálható, feltehetően poligénes hátterű betegekre alkalmaztuk.

Publikáció	Vizsgálati alanyok, klinikai jellemzők	Reprogramozás módszere, differenciációs protokoll	Fő eredmények
Chiang és munkatársai (Chiang et al., 2011)	2DISC1 deléciót hordozó SCZ beteg	Csak reprogramozás történt, plazmid transzfekcióval.	Pluripotens sejtvonalak voltak létrehozhatók.
Brennand és munkatársai (Brennand et al., 2011)	4 SCZ beteg (idiopátiás) és 4 KNT	Yamanaka faktorokat és LIN28-t expresszáló tetraciklinel indukálható lentivírus, pánneuronális protokoll.	Csökcent neuronális konnektivitás és neuritnövekedés, elektrofiziológiai és génexpressziós különbségek, melyeket az antipszichotikus kezelés ellensúlyozott.
Pedrosa és munkatársai (Pedrosa et al., 2011)	3 SCZ beteg, az egyik 22q11.2 deléciót hordozó	Yamanaka faktorokat expresszáló lentivírus, reténsavmentes differenciáció.	Nem történt szisztematikus összehasonlítás; génexpressziós profil eltért (perzisztáló OCT4 és NANOG kifejeződés).
Paulsen és munkatársai (Paulsen Bda et al., 2014)	1 idiopátiás, terápia rezisztens SCZ beteg és 2 KNT	Yamanaka faktorokat expresszáló retrovírus, pánneuronális differenciáció.	Kétszer nagyobb extramitokondriális O <sub>2</sub> fogyasztás; emelkedett ROS szintek, melyet a valproát kezelés rendezett.
Robicsek és munkatársai (Robicsek et al., 2013)	3 clozapinnal kezelt SCZ beteg és 2 KNT	Yamanaka faktorokat expresszáló lentivírus, glutamaterg és dopaminerg irányú differenciáció.	A glutamaterg és dopaminerg neuronok differenciációja zavart; mitokondriális diszfunkció és kóros neuronális hálózati struktúra.
Brennand és munkatársai (Brennand et al., 2015)	4 SCZ beteg (idiopátiás) és 4 KNT	Id. Brennand és mtsai., 2011	A neuronális kultúrák génexpressziós mintázata főtájis fejlődési stádiumnak felel meg. Károsodott progenitor migráció és fokozott oxidatív stressz SCZ-ban.
Yu és munkatársai (Yu et al., 2014)	Id. Brennand és mtsai, 2011	Gyrus dentatus (hippokampális) differenciációs protokoll.	Kalcium-imaging és spontán excitatórikus posztzinaptikus áram (sEPSC) frekvencia mérése patch-clamp technikával. Csökkent mini frekvencia SCZ-ban.
Bundo és munkatársai (Bundo et al., 2014)	1 páciens 22q11.2 delécióval	Sendai vírus alapú reprogramozás.	Magasabb LINE1 retrotranszpozon aktivitás szkizofréniaiban.
Yoon és munkatársai (Yoon et al., 2014)	1 páciens 15q11.2 mikrodélécióval	Episzmális, nem-integráló plazmid transzfekció.	CYFIP1 gén dóziskülönbség által okozott abnormalis rozetta struktúra és apikális polarítás a neuronális differenciáció során.
Wen és munkatársai (Wen et al., 2014)	2 DISC1 frameshift mutációt hordozó beteg egy családból (1 SCZ és 1 depressziós), 2 KNT ugyanabból a családból és 1 független KNT	Episzmális, nem-integráló plazmid transzfekció, pánneuronális differenciáció.	DISC1 mutáns neuronokban preszinaptikus deficit, csökkent DISC1 szint (a mutáns fehérje domináns negatív hatása); pre-, posztzinaptikus és transzporter gének diszregulációja; a rendellenességek TALEN genom korrekcióval helyreállíthatóak.
Marsoner és munkatársai (Marsoner et al., 2016; Marcatili et al., 2016)	Klozapinra reagáló és klozapin-rezisztens szkizofrén páciens.	Sendai vírus alapú reprogramozás.	Csak reprogramozás és iPSC karakterizálás történt, további vizsgálatokat terveznek.

csökkenéshez vezető pszichiátriai zavar, melyre a késő serdülőkorra vagy fiatal felnőttkorra eső betegségkezdet jellemző (van Os és Kapur, 2009; Phillips és Kupfer, 2013; Rethelyi et al., 2013; Wittchen et al., 2011). A betegség pozitív tünetekkel (hallucinációk és téveszmék), dezorganizált gondolkodással és magatartással, negatív tünetekkel (érzelmi elsivárosodás,

csökkent szociális motivációk), valamint kognitív zavarokkal jellemezhető. Kezelése, amely többnyire élethosszig tartó, az elmúlt évtizedek farmakológiai és pszichoszociális intervencióinak fejlődése ellenére is gyakran akadályokba ütközik. A páciensek jelentős hányada nem reagál megfelelőképpen a rendelkezésre álló terápiai lehetőségekre, vagy a hiányos

betegségbelátás és együttműködés ássa alá a kezelés hatékonyságát. Az iker- és családvizsgálatok magas heritabilitást (örökletességet) jeleztek a betegségben, ugyanakkor a genetikai asszociációs vizsgálatok kevés jól replikálható genetikai variánst tudtak azonosítani a nagyelem számú (több ezer szkizofrén beteg) vizsgálat ellenére. Emiatt feltételezhető, hogy a szkizofrén tünetek kialakulásában, a legtöbb esetben komplex, poligénes a háttér, azaz több, egyenként kis hatású genetikai variáns teszi az egyedet érzékenyebbé a környezeti rizikó faktorok hatásaira.

Ritka kromoszómális aberrációk, mint például a Disrupted-in-schizophrenia 1 (DISC1) gén transzlokációja vagy a 22q11.2 régió deléciója (DiGeorge szindróma) csak igen kis számban, a szkizofrén betegek 0,2-0,3%-ában detektálható. Érdekes megfigyelés, hogy az 1q21.1 és a 15q13.3 deléciókat szkizofrénia mellett autizmussal és értelmi fogyatékossgal is összefüggésbe hozták (Rethelyi et al., 2013). Ezért az elmúlt évtizedekben a szkizofrénia kutatásában is meghatározóvá vált a neurodevelopmentális szemlélet. Eszerint a szkizofrénia egy neurodevelopmentális zavar, melynek alapja a patológiás agyfejlődés, például az agykéreg és a hippokampusz kialakulása során a neuronális migráció károsodik, vagy a szinapsziszok fejlődésének és eliminációjának az egyensúlya felborul, és aberráns neuronális mikrohálózatok fejlődnek ki. A genetikai hatások fontos szerepére és a neurodevelopmentális etiológiára való tekintettel számos kutatócsoport gondolta úgy, hogy az indukált pluripotens alapú *in vitro* betegségmodellezés releváns megközelítés lehet szkizofréniaiban.

A szkizofréniaiban végzett *in vitro* betegségmodellezési vizsgálatokat a **2. táblázat** foglalja össze. Összességében elmondhatjuk, hogy az eredmények rendkívül heterogének és szerteágazók. Számos vizsgálatban voltak kimutathatók molekuláris és funkcionális különbségek neuronális progenitor vagy érett neuron szinten, ugyanakkor független kutatócsoportok által megismételhető és megegyező eredménye alig született a területen. A vizsgálatokba bevont betegek heterogenitásának csökkentése érdekében a kutatók próbálják az ismert genetikai polimorfizmusokat, gén másolatszám variációkat (copy number variation) hordozó betegekből létrehozni az IPSC vonalakat. Genom-editálási módszerek (például CRISPR vagy TALEN) lehetővé teszik, izogénikus, csak egyetlen genetikai polimorfizmusban eltérő sejtvonalak létrehozását. Ennek a segítségével vizsgálható, hogy a genetikai „hiba” korrekciója sejtes szinten is helyreállítja-e a fenotípust vagy a „hiba” létrehozása kialakítja a kontroll sejtekben is a fenotípust.

Legalább két független vizsgálat támasztja alá az alábbi betegségútvonalakat a szkizofrénia *in vitro* modelljeiben: a neuronális progenitorok károsult migrációja, a sejtek mitokondriális, tehát energetikai zavara és fokozott oxidatív stressz. Neuronális hálózatok szintjén károsult preszinaptikus funkció volt megfigyelhető, amely csökkent konnektivitáshoz, a hálózatok deszinkronizált működéséhez vezetett. A szkizofrénia sejtes modelljének felhasználásával több molekula, így a loxapin, valproát, lítium, riluzol és IGF1 kedvező hatása volt kimutatható a fenti károsult fenotípusokra.

### IPSC-ALAPÚ *IN VITRO* BETEGSÉGMODELLEZÉS ALZHEIMER-KÓRBAN

A 65 év feletti lakosság 8%-ánál, míg a 80 év feletiek 30%-ánál figyelhető meg szignifikáns kognitív funkcióromlás, a DSM-5 terminológia alapján major neurokognitív zavar. A leggyakrabban előforduló, a kognitív hanyatlást mutató páciensek több mint felét érintő demencia-típus az Alzheimer-kór, amelyre neuropatológiailag extracellulárisan kialakuló neuritikus plakkok és intracellulárisan felhalmozódó neurofibrilláris kötegek, beta-amiloid lerakódás jellemző (Pákáski és Kálmán, 2015). Az Alzheimer-kórnak genetikai epidemiológiai szempontból megkülönböztetjük a familiáris és sporadikus formáját (Plomin et al., 2013). A familiáris forma az összes eset 5%-a, korai indulású, 50 évnél fiatalabb életkorban kezdődik és a neuropszichiátriai betegségek között egyedülálló módon mendeli, autoszómális domináns öröklődést követ. A familiáris formában eddig azonosított génmutációk a presenilin-1 (PSEN1), a presenilin-2 (PSEN2) és az amiloid prekursor protein (APP) gének pontmutációi az amiloid anyagsere kóros eltolódását okozzák a toxikus (a hosszabb, A $\beta$ 42 típusú) beta-amiloid képződés irányába. Megemlítenéd, hogy az APP gén a 21. kromoszómán helyezkedik el. Nagy valószínűséggel ezzel magyarázható az Alzheimer-típusú demencia gyakoribb előfordulása 21-es triszómiában, Down-szindrómában. A sporadikus Alzheimer-kór típusra későbbi, 65 év feletti betegségkezdet jellemző és a nevével ellentétben nem teljesen sporadikus, ikervizsgálatok alapján a betegség heritabilitása 0,6 körül van. Ez az időskori Alzheimer-kór genetikai szempontból poligénes, azonban egy major hatású génváltozatot sikerült már kimutatni. Az apolipoprotein E (APOE) gén  $\epsilon$ 4-es alléljének frekvenciája kb. 40% Alzheimer-kóros betegek körében a kontrollok között észlelhető 15%-hoz. Az  $\epsilon$ 4-es allél által kódolt fehérje könnyebben kötődik az amiloid

**3. táblázat** Alzheimer-kórral vagy Down-szindrómával\* foglalkozó iPSC vagy neuronális sejteken végzett kutatások

\*Csak azon Down-szindrómás betegektől származó iPSC-kutatásokat listázzuk, melyek a korai AK neuropatológiájának tanulmányozására használták a sejttenyészeteket. (DS: Down szindróma; KNT: kontroll; fAK és sAK: familiáris és sporadikus Alzheimer-kór; APP: amiloid prekursor protein; Aβ: beta-amiloid, melynek a gyakoribb, rövidebb formája az Aβ40, a hosszabb, kicsapódásra hajlamos, amiloidogenikus formája az Aβ42; BSI és GSI: β- és γ-szekretáz gátló; NSAID: nem-szteroid gyulladásgátló; iPSC: indukált pluripotens őssejt; iN: indukált neuron; ESC: embrionális őssejt; PSEN1 és PSEN2: presenilin-1 és -2.)

Publikáció	Vizsgálati alanyok, klinikai jellemzők	Reprogramozás módszere	Vizsgált sejttípus, fő eredmények
Yagi és munkatársai (Yagi et al., 2011)	2 fAK beteg (egy PSEN1 és egy PSEN2 mutációt hordozó), 1 sporadikus Parkinson-kóros beteg, 1 KNT	OCT4, SOX2, KLF4, LIN28 és NANOG vagy Yamanaka-faktorokat expresszáló retrovírus	fAK neuronok több Aβ42-t szekretáltak, neuropatológiát nem figyeltek meg; a GSI és szelektív Aβ42-csökkentő kezelés mérsékelte a kóros Aβ relatív mennyiségét.
Yahata és munkatársai (Yahata et al., 2011)	1 KNT iPSC, 1 KNT ESC	Oct3/4, Sox2 és Klf4 expresszáló lentivírus	Differenciáltott kortikális neuronok és glia sejtek karakterizációja, Aβ anyagcseréjük jellemzése; a BSI és NSAID kezelés csökkentette az Aβ42 szekréciót.
Israel és munkatársai (Israel et al., 2012)	2 fAK beteg (APP gén duplikációval), 2 sAK beteg, 2 KNT	Yamanaka-faktorokat ± EGFP expresszáló retrovírus	3 AK sejtvonalban magasabb Aβ40, a foszforilált tau és az aktív glikogén szintáz kináz-3β (GSK3β) szint, melyet csökkentett a BSI és GSI kezelés; intracellulárisan akumuláló nagy RAB5-pozitív korai endoszómák.
Koch és munkatársai (Koch et al., 2012)	3 PSEN1 variáns hordozó sejtvonal (ESC-ből), 3 izogenikus KNT, 1 független KNT iPSC	Yamanaka-faktorokat expresszáló retrovírus	A sejterettség és a PSEN1 genotípus befolyásolja az AK-fehérjék expresszióját, az APP metabolizmust és az Aβ típusok arányát, melyre kedvező hatással van a GSI (±NSAID) kezelés.
Shi és munkatársai (Shi et al., 2012b)	1 DS és 2 KNT iPSC, 1 DS és 1 KNT ESC	A sejteket más intézetektől kapták, a reprogramozást nem részletezik.	DS sejtkultúrákban magasabb az Aβ40 és Aβ42 szint (de az APP nem), extra- és intracelluláris Aβ aggregátumok, kóros tau-foszforiláció és lokalizáció; a tenyésztési idővel nő a különbség a KNT-hoz képest.
Briggs és munkatársai (Briggs et al., 2013)	Ugyanattól a DS betegtől származó 21 triszómiás és euploid sejtvonal (izogenikus KNT), 2 független KNT.	oriP/EBNA1-alapú pCEP4 episzómalis, nem-integráló vektor	21 triszómiában jelentős génexpressziós eltérések IPS sejtekben; a differenciáció során magasabb glia képződési ráta; fokozott oxidatív stressz érzékenység; nem volt különbség a neuronális differenciáció, proliferáció, és neurit növekedés tekintetében.
Kondo és munkatársai (Kondo et al., 2013)	5 fAK beteg (APP mutáció), 2 sAK beteg, 3 KNT	SOX2, KLF4, OCT4, L-MYC, LIN28 és kis hajtú RNS p53 expresszáló episzómalis, nem-integráló vektorok	Aβ42 akumulálódott egyes fAK és sAK neuronokban és asztrocitákban, mely oxidatív és endoplazmatikus retikulum-stresszhez vezetett; a BSI és dokozahexén-sav kezelés csökkentette a stresszt.
Woodruff és munkatársai (Woodruff et al., 2013)	9 génszűréses eljárással létrehozott PSEN1 mutáns iPSC és izogenikus kontrolljaik	4 faktort expresszáló retrovírus (a sejteket más intézettől kapták, a reprogramozást nem részletezik)	Az egyes mutációk hatása a γ-szekretáz-függő és -független PSEN1 funkciókra, az Aβ42:Aβ40 arányra; a TALEN génszűréses eljárás nagy specifitású.
Lee és munkatársai (Lee et al., 2014)	2 AK beteg (egy APOE ε4 és egy PSEN1 mutáció), 1 Parkinson-kóros beteg, 1 KNT	Yamanaka-faktorokat expresszáló retrovírus	Multimodell-rendszerben bizonyították, hogy AK-ban fokozott a savas szfingomielináz aktivitása; ez összefügghet az AK iN-ra jellemző autofágia zavarral, mely befolyásolható az ezim gátlásával.
Liu és munkatársai (Liu et al., 2014)	3 fAK beteg (PSEN1 mutáció), 2 KNT	Yamanaka-faktorokat expresszáló retrovírus	AK sejtekben magasabb az Aβ42:Aβ40 arány; GSI csökkenti valamennyi Aβ szintjét, a γ-szekretáz modulátor kezelés pedig az Aβ42 relatív mennyiségét (fibroblasztokban, iPSC és neuronális sejtekben is).

Maloney és munkatársai (Maloney et al., 2014)	2 IPSC vonal (különböző APP mutáció), 2 izogenikus KNT	Kereskedelembe elérhető sejtekkel dolgoztak, a reprogramozást nem részletezik.	Bizonyos APP génvariációk kivédik, vagy elősegítik az amiloidogenikus APP hasítást humán iN és transzfektált vagy primer egér neuronokban.
Muratore és munkatársai (Muratore et al., 2014)	2 APP mutációt hordozó (AK-val diagnosztizált apa és tünetmentes lánya), 4 KNT	Yamanaka-faktorokat expresszáló retrovírus (a KNT minták őssejtbankból)	Az APP V717I mutáció befolyásolja az APP lokalizációját, az A $\beta$ 42 relatív mennyiségét, a tau expresszióját és foszforilációját.
Sproul és munkatársai (Sproul et al., 2014)	3 fAK beteg (PSEN1 mutációk 2 családból), 2 KNT a családokból, 1 független KNT	Yamanaka-faktorokat expresszáló retrovírus.	AK fibroblasztokban és neuronális progenitorokban magasabb az A $\beta$ 42:A $\beta$ 40 arány; a génexpressziós különbségek fokozódtak a differenciáció előrehaladtával, de csak részben korreláltak az agyban mért értékekkel.
Vazin és munkatársai (Vazin et al., 2014)	2 KNT IPSC, 2 KNT ESC	A reprogramozást nem részletezik.	A differenciáltatott glutamáterg és GABA-erg neuronok megfelelő <i>in vitro</i> AK modellrendszerek lehetnek; a glutamáterg és az idős sejtek érzékenyebbek az A $\beta$ 42-kezelésre.
Zhang és munkatársai (Zhang et al., 2014)	1 KNT IPSC	Oct3/4, Sox2 és Klf4 expresszáló retrovírus	A differenciáltatott 3D neuronkultúrák megfelelő <i>in vitro</i> AK modellrendszerek lehetnek.

fehérjéhez, aminek nagy valószínűséggel szerepe lehet az amiloid plakkok létrejöttében. Ezen kívül genom-szintű asszociációs vizsgálatokkal sikerült azonosítani újabb genetikai rizikó faktorokat időskori Alzheimer-kórban, mint például a sortilin-related receptor (SORL1) gén variánsait (Rogaeva et al., 2007). Érdekes módon a SORL1 gén terméke egyrészt lipoprotein (LDL) receptorként funkcionál, másrészt az amiloid fehérje anyagcseréjében van szerepe.

Számos próbálkozás történt az Alzheimer-kór IPSC-alapú modellezésére, melyeket a **3. táblázatban** foglaltunk össze. A megközelítés kritikáját jelenti ebben a betegségben, hogy az *in vivo* évtizedek alatt lejátszódó neurodegenerációs folyamat reprodukálható-e néhány hét alatt laboratóriumban. Az eddigi eredmények arra utalnak, hogy az Alzheimer-patológia alapját jelentő A $\beta$ 42- és tau-fehérje plakkfelhalmozódás reprodukálható az Alzheimer-kór és a hozzá hasonló 21-es kromoszóma triszómia IPSC-alapú modelljeiben. Továbbá a patológiás fehérjék képződése befolyásolható volt olyan farmakológiai ágensekkel (például NSAID,  $\beta$ - és  $\gamma$ -szekretáz gátlók), melyek az elmúlt évek gyógyszerfejlesztési ágendájában is fontos szerepet játszottak. Ugyanakkor érdemes megjegyezni, hogy ezek az eredmények mechanisztikus modellt jelentenek, melyek az Alzheimer-patológiának csak egyes részfolyamatába engednek betekintést. Az Alzheimer-kór tünetei feltehetően nem közvetlenül a patológiás fehérjelerakódás következményei, hanem a kóros fehérje lerakódás hatására (máig még

nem teljes körűen értett módon) létrejövő szinaptikus és neuronális pusztulás révén jönnek létre. Ezt a folyamatot azonban a bemutatott sejtes modellek kevésbé tudták eddig reprodukálni.

## ÖSSZEFOGLALÁS

Összefoglalónkban arra szerettük volna felhívni a figyelmet, hogy az őssejtbiológia és a kísérleti idegtudomány találkozásánál rendelkezésre áll egy fontos módszertani megközelítés, ami felhasználható a neurológiai és pszichiátriai betegségek molekuláris hátterének kutatására. Két krónikus betegség, a szkizofrénia és az Alzheimer-kór példáján keresztül mutattuk be a terület eddigi eredményeit. Míg szkizofréniaiban elsősorban a konkrét genetikai variánsok sejtszintű, idegsejt-fejlődésre kifejtett hatásának kutatására tudjuk használni a sejtes modelleket, az Alzheimer-kórban a kóros fehérjék termelődésének dinamikája és ennek gyógyszer-molekulák általi befolyásolhatósága vizsgálható. A kutatási megközelítés szempontjából kulcsfontosságú lesz, hogy a módszertan fejlődésével növelhetővé válnak-e az esetszámok. A jelenleg elérhető szakirodalom ugyanis néhány (max. 5) páciens-től származó IPSC vonallal végzett kísérletből von le következtetéseket ezekre a genetikailag és klinikailag rendkívül heterogén betegcsoportokra vonatkozólag. A szakirodalom ezt nevezi a skálázhatóság (scalability) problémájának. Hasonlóan fontos kérdés, hogy sikerül-e ugyanazt az eredményt



kimutatni hasonló differenciálási protokollokkal és mérési technikákkal egymástól független kutatócsoportoknak, azaz reprodukálhatók lesznek-e az *in vitro* betegségmodellezési eredmények. Bár számos kérdés, kritika és bizonytalanság övezi, reményeink szerint idővel ez a megközelítés is egy fontos eleme lesz a neuropszichiátriai betegségek kutatásának fegyvertárában (Kálmán et al., 2016).

**KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.** A tanulmány elkészülését a Nemzeti Agykutatási Program NAP-B KTIA\_NAP\_13-2014-0011 (kutatásvezetők: Dr. Nemoda Zsófia és Dr. Réthelyi János) és NAP-A KTIA\_13\_NAP-A-I/6 (kutatásvezetők: Dr. Apáti Ágota és Dr. Homolya László) számú pályázatai támogatták.

**LEVELEZŐ SZERZŐ:** Dr. Réthelyi János, Semmelweis Egyetem, Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, 1083 Budapest, Balassa utca 6.  
E-mail: rethelyi.janos@med.semmelweis-univ.hu

## IRODALOM

- Benam, K. H., Dauth, S., Hassell, B., Herland, A., Jain, A., Jang, K. J., Karalis, K., Kim, H. J., MacQueen, L., Mahmoodian, R., Musah, S., Torisawa, Y. S., van der Meer, A. D., Villenave, R., Yadid, M., Parker, K. K., Ingber, D. E. (2015) Engineered *in vitro* disease models. *Annu Rev Pathol*, 10:195-262.
- Boyer, L. F., Campbell, B., Larkin, S., Mu, Y., Gage, F. H. (2012) Dopaminergic differentiation of human pluripotent cells. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, Chapter 1:Unit1H.6.
- Brennand, K., Savas, J. N., Kim, Y., Tran, N., Simone, A., Hashimoto-Torii, K., Beaumont, K. G., Kim, H. J., Topol, A., Ladrán, I., Abdelrahim, M., Matikainen-Ankney, B., Chad, S. H., Mrksich, M., Rakic, P., Fang, G., Zhang, B., Yates, J. R., 3rd, Gage, F. H. (2015) Phenotypic differences in hiPSC NPCs derived from patients with schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 20:361-8.
- Brennand, K. J., Simone, A., Jou, J., Gelboin-Burkhart, C., Tran, N., Sangar, S., Li, Y., Mu, Y., Chen, G., Yu, D., McCarthy, S., Sebat, J., Gage, F. H. (2011) Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 473:221-5.
- Briggs, J. A., Sun, J., Shepherd, J., Ovchinnikov, D. A., Chung, T. L., Nayler, S. P., Kao, L. P., Morrow, C. A., Thakar, N. Y., Soo, S. Y., Peura, T., Grimmond, S., Wolvetang, E. J. (2013) Integration-free induced pluripotent stem cells model genetic and neural developmental features of down syndrome etiology. *Stem Cells*, 31:467-78.
- Bundo, M., Toyoshima, M., Okada, Y., Akamatsu, W., Ueda, J., Nemoto-Miyachi, T., Sunaga, F., Toritsuka, M., Ikawa, D., Kakita, A., Kato, M., Kasai, K., Kishimoto, T., Nawa, H., Okano, H., Yoshikawa, T., Kato, T., Iwamoto, K. (2014) Increased 11 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron*, 81:306-13.
- Chiang, C. H., Su, Y., Wen, Z., Yoritomo, N., Ross, C. A., Margolis, R. L., Song, H., Ming, G. L. (2011) Integration-free induced pluripotent stem cells derived from schizophrenia patients with a DISC1 mutation. *Mol Psychiatry*, 16:358-60.
- Israel, M. A., Yuan, S. H., Bardy, C., Reyna, S. M., Mu, Y., Herrera, C., Hefferan, M. P., Van Gorp, S., Nazor, K. L., Boscolo, F. S., Carson, C. T., Laurent, L. C., Marsala, M., Gage, F. H., Remes, A. M., Koo, E. H., Goldstein, L. S. (2012) Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature*, 482:216-20.
- Kálmán, S., Hathy, E., Réthelyi, J. M. (2016) A Dishful of a Troubled Mind: Induced Pluripotent Stem Cells in Psychiatric Research. *Stem Cells International*, Article ID 7909176, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7909176>.
- Kimbrel, E. A., Lanza, R. (2015) Current status of pluripotent stem cells: moving the first therapies to the clinic. *Nat Rev Drug Discov*, 14:681-92.
- Koch, P., Tamboli, I. Y., Mertens, J., Wunderlich, P., Ladewig, J., Stuber, K., Esselmann, H., Wiltfang, J., Brustle, O., Walter, J. (2012) Presenilin-1 L166P mutant human pluripotent stem cell-derived neurons exhibit partial loss of gamma-secretase activity in endogenous amyloid-beta generation. *Am J Pathol*, 180:2404-16.
- Kondo, T., Asai, M., Tsukita, K., Kutoku, Y., Ohsawa, Y., Sunada, Y., Imamura, K., Egawa, N., Yahata, N., Okita, K., Takahashi, K., Asaka, I., Aoi, T., Watanabe, A., Watanabe, K., Kadoya, C., Nakano, R., Watanabe, D., Maruyama, K., Hori, O., Hibino, S., Choshi, T., Nakahata, T., Hioki, H., Kaneko, T., Naitoh, M., Yoshikawa, K., Yamawaki, S., Suzuki, S., Hata, R., Ueno, S., Seki, T., Kobayashi, K., Toda, T., Murakami, K., Irie, K., Klein, W. L., Mori, H., Asada, T., Takahashi, R., Iwata, N., Yamanaka, S., Inoue, H. (2013) Modeling Alzheimer's disease with iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular Abeta and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell*, 12:487-96.
- Lee, J. K., Jin, H. K., Park, M. H., Kim, B. R., Lee, P. H., Nakauchi, H., Carter, J. E., He, X., Schuchman, E. H., Bae, J. S. (2014) Acid sphingomyelinase modulates the autophagic process by controlling lysosomal biogenesis in Alzheimer's disease. *J Exp Med*, 211:1551-70.
- Lewis, D. A., Curley, A. A., Glausier, J. R., Volk, D. W. (2012) Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends Neurosci*, 35:57-67.
- Liu, Q., Waltz, S., Woodruff, G., Ouyang, J., Israel, M. A., Herrera, C., Sarsoza, F., Tanzi, R. E., Koo, E. H., Ringman, J. M., Goldstein, L. S., Wagner, S. L., Yuan, S. H. (2014) Effect of potent gamma-secretase modulator in human neurons derived from multiple presenilin 1-induced pluripotent stem cell mutant carriers. *JAMA Neurol*, 71:1481-9.
- Liu, Y., Liu, H., Sauvey, C., Yao, L., Zarnowska, E. D., Zhang, S. C. (2013) Directed differentiation of forebrain GABA interneurons from human pluripotent stem cells. *Nat Protoc*, 8:1670-9.
- Maloney, J. A., Bainbridge, T., Gustafson, A., Zhang, S., Kyauk, R., Steiner, P., van der Brug, M., Liu, Y., Ernst, J. A., Watts, R. J., Atwal, J. K. (2014) Molecular mechanisms of Alzheimer disease protection by the A673T allele of amyloid precursor protein. *J Biol Chem*, 289:30990-1000.
- Marcatili, M., Marsoner, F., D'Agostino, A., Karnavas, T., Bottai, D., Scarone, S., Conti, L. (2016) Establishment of an induced pluripotent stem cell (iPSC) line from a patient with Clozapine-responder Schizophrenia. *Stem Cell Res*, 17:630-633.
- Marsoner, F., Marcatili, M., Karnavas, T., Bottai, D., D'Agostino, A., Scarone, S., Conti, L. (2016) Generation and characterization of an induced pluripotent stem cell (iPSC) line from a patient with clozapine-resistant Schizophrenia. *Stem Cell Res*, 17:661-664.
- Mertens, J., Marchetto, M. C., Bardy, C., Gage, F. H. (2016) Evaluating cell reprogramming, differentiation and conversion technologies in neuroscience. *Nat Rev Neurosci*.
- Muratore, C. R., Rice, H. C., Srikanth, P., Callahan, D. G., Shin, T., Benjamin, L. N., Walsh, D. M., Selkoe, D. J., Young-Pearse, T. L. (2014) The familial Alzheimer's disease APPV717I muta-

- tion alters APP processing and Tau expression in iPSC-derived neurons. *Hum Mol Genet*, 23:3523-36.
22. Németh, K., Gócsa, E. (2014) Össejtek-e az embrionális össejtek? A kutatás harminc éve. *Természet világa : természet-tudományi közlöny*, 145:386-390.
  23. Pákáski, M., Kálmán, J. Major és minor neurokognitív zavarok. In: Füredi, J., A., N. (Eds.), *A pszichiátria magyar kézikönyve*. Medicina, Budapest; 2015, pp. 409-431.
  24. Paulsen Bda, S., Cardoso, S. C., Stelling, M. P., Cadilhe, D. V., Rehen, S. K. (2014) Valproate reverts zinc and potassium imbalance in schizophrenia-derived reprogrammed cells. *Schizophr Res*, 154:30-5.
  25. Pedrosa, E., Sandler, V., Shah, A., Carroll, R., Chang, C., Rockowitz, S., Guo, X., Zheng, D., Lachman, H. M. (2011) Development of patient-specific neurons in schizophrenia using induced pluripotent stem cells. *J Neurogenet*, 25:88-103.
  26. Phillips, M. L., Kupfer, D. J. (2013) Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. *Lancet*, 381:1663-71.
  27. Plomin, R., DeFries, J. C., Knopik, V. A., Neiderhiser, J. M. Cognitive disabilities. In: Plomin, R., Defries, J. C., Knopik, V. A., Neiderhiser, J. M. (Eds.), *Behavioral Genetics*. Worth Publishing, New York; 2013, pp.163-185.
  28. Rethelyi, J. M., Benkovits, J., Bitter, I. (2013) Genes and environments in schizophrenia: The different pieces of a manifold puzzle. *Neurosci Biobehav Rev*, 37:2424-37.
  29. Robicsek, O., Karry, R., Petit, I., Salman-Kesner, N., Muller, F. J., Klein, E., Aberdam, D., Ben-Shachar, D. (2013) Abnormal neuronal differentiation and mitochondrial dysfunction in hair follicle-derived induced pluripotent stem cells of schizophrenia patients. *Mol Psychiatry*, 18:1067-76.
  30. Rogava, E., Meng, Y., Lee, J. H., Gu, Y., Kawarai, T., Zou, F., Katayama, T., Baldwin, C. T., Cheng, R., Hasegawa, H., Chen, F., Shibata, N., Lunetta, K. L., Pardossi-Piquard, R., Bohm, C., Wakutani, Y., Cupples, L. A., Cuenco, K. T., Green, R. C., Pinessi, L., Rainero, I., Sorbi, S., Bruni, A., Duara, R., Friedland, R. P., Inzelberg, R., Hampe, W., Bujo, H., Song, Y. Q., Andersen, O. M., Willnow, T. E., Graff-Radford, N., Petersen, R. C., Dickson, D., Der, S. D., Fraser, P. E., Schmitt-Ulms, G., Younkin, S., Mayeux, R., Farrer, L. A., St George-Hyslop, P. (2007) The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet*, 39:168-77.
  31. Shi, Y., Kirwan, P., Livesey, F. J. (2012a) Directed differentiation of human pluripotent stem cells to cerebral cortex neurons and neural networks. *Nat Protoc*, 7:1836-46.
  32. Shi, Y., Kirwan, P., Smith, J., MacLean, G., Orkin, S. H., Livesey, F. J. (2012b) A human stem cell model of early Alzheimer's disease pathology in Down syndrome. *Sci Transl Med*, 4:124ra29.
  33. Shi, Y., Kirwan, P., Smith, J., Robinson, H. P., Livesey, F. J. (2012c) Human cerebral cortex development from pluripotent stem cells to functional excitatory synapses. *Nat Neurosci*, 15:477-86, S1.
  34. Sproul, A. A., Jacob, S., Pre, D., Kim, S. H., Nestor, M. W., Navarro-Sobrinho, M., Santa-Maria, I., Zimmer, M., Aubry, S., Steele, J. W., Kahler, D. J., Dranovsky, A., Arancio, O., Crary, J. F., Gandy, S., Noggle, S. A. (2014) Characterization and molecular profiling of PSEN1 familial Alzheimer's disease iPSC-derived neural progenitors. *PLoS One*, 9:e84547.
  35. Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., Yamanaka, S. (2007) Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*, 131:861-872.
  36. Takahashi, K., Yamanaka, S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126:663-76.
  37. Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., Jones, J. M. (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282:1145-7.
  38. van Os, J., Kapur, S. (2009) Schizophrenia. *Lancet*, 374:635-45.
  39. Vazin, T., Ball, K. A., Lu, H., Park, H., Ataiejjannati, Y., Head-Gordon, T., Poo, M. M., Schaffer, D. V. (2014) Efficient derivation of cortical glutamatergic neurons from human pluripotent stem cells: a model system to study neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 62:62-72.
  40. Wang, H., Doering, L. C. (2012) Induced Pluripotent Stem Cells to Model and Treat Neurogenetic Disorders. *Neural Plasticity*, 2012:15.
  41. Wen, Z., Nguyen, H. N., Guo, Z., Lalli, M. A., Wang, X., Su, Y., Kim, N. S., Yoon, K. J., Shin, J., Zhang, C., Makri, G., Nauen, D., Yu, H., Guzman, E., Chiang, C. H., Yoritomo, N., Kaibuchi, K., Zou, J., Christian, K. M., Cheng, L., Ross, C. A., Margolis, R. L., Chen, G., Kosik, K. S., Song, H., Ming, G. L. (2014) Synaptic dysregulation in a human iPSC cell model of mental disorders. *Nature*.
  42. Wittchen, H. U., Jacobi, F., Rehm, J., Gustavsson, A., Svensson, M., Jonsson, B., Olesen, J., Allgulander, C., Alonso, J., Faravelli, C., Fratiglioni, L., Jennum, P., Lieb, R., Maercker, A., van Os, J., Preisig, M., Salvador-Carulla, L., Simon, R., Steinhausen, H. C. (2011) The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*, 21:655-79.
  43. Woodruff, G., Young, J. E., Martinez, F. J., Buen, F., Gore, A., Kinaga, J., Li, Z., Yuan, S. H., Zhang, K., Goldstein, L. S. (2013) The presenilin-1 DeltaE9 mutation results in reduced gamma-secretase activity, but not total loss of PS1 function, in isogenic human stem cells. *Cell Rep*, 5:974-85.
  44. Yagi, T., Ito, D., Okada, Y., Akamatsu, W., Nihei, Y., Yoshizaki, T., Yamanaka, S., Okano, H., Suzuki, N. (2011) Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum Mol Genet*, 20:4530-9.
  45. Yahata, N., Asai, M., Kitaoka, S., Takahashi, K., Asaka, I., Hioki, H., Kaneko, T., Maruyama, K., Saido, T. C., Nakahata, T., Asada, T., Yamanaka, S., Iwata, N., Inoue, H. (2011) Anti-Abeta drug screening platform using human iPSC cell-derived neurons for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 6:e25788.
  46. Yamanaka, S. (2009) A Fresh Look at iPSC Cells. *Cell*, 137:13-17.
  47. Yamanaka, S. (2010) Patient-specific pluripotent stem cells become even more accessible. *Cell Stem Cell*, 7:1-2.
  48. Yildirim, S. *Induced Pluripotent Stem Cells*. Springer-Verlag New York, 2012.
  49. Yoon, K. J., Nguyen, H. N., Ursini, G., Zhang, F., Kim, N. S., Wen, Z., Makri, G., Nauen, D., Shin, J. H., Park, Y., Chung, R., Pekle, E., Zhang, C., Towe, M., Hussaini, S. M., Lee, Y., Rujescu, D., St Clair, D., Kleinman, J. E., Hyde, T. M., Krauss, G., Christian, K. M., Rapoport, J. L., Weinberger, D. R., Song, H., Ming, G. L. (2014) Modeling a genetic risk for schizophrenia in iPSCs and mice reveals neural stem cell deficits associated with adherens junctions and polarity. *Cell Stem Cell*, 15:79-91.
  50. Yu, D. X., Di Giorgio, F. P., Yao, J., Marchetto, M. C., Brennand, K., Wright, R., Mei, A., McHenry, L., Lisuk, D., Grasmick, J. M., Silberman, P., Silberman, G., Jappelli, R., Gage, F. H. (2014) Modeling hippocampal neurogenesis using human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*, 2:295-310.
  51. Zhang, D., Pekkanen-Mattila, M., Shahsavani, M., Falk, A., Teixeira, A. I., Herland, A. (2014) A 3D Alzheimer's disease culture model and the induction of P21-activated kinase mediated sensing in iPSC derived neurons. *Biomaterials*, 35:1420-8.

## Modeling neurological and psychiatric disorders *in vitro* using induced pluripotent stem cells: highlighting findings in Alzheimer's disease and schizophrenia

Over the past decade we witnessed the birth of a new scientific area that lies at the borders of developmental biology, stem cell biology, basic and clinical neuroscience. *In vitro* disease modeling refers to the approach that exploits the capacity of stem cells for self-renewal and pluripotency by generating specific cell types that are relevant for a given disorder. Based on this method, neurological and psychiatric disorders can be investigated by differentiating stem cells into neurons in a dish, and studying the relevant neuronal populations affected in the pathophysiology of the disorder in terms of specific cellular phenotypes. The advent of induced pluripotent stem cells (iPSCs) has made it possible to reprogram iPSCs from somatic cells of patients carrying specific genetic risk variants, and to analyze the *in vitro* cellular findings in the context of the clinical picture. Pluripotent stem cell based disease modeling offers an alternative solution for invasive and mostly not performable central nervous system biopsies in neuropsychiatric disorders, and is an appealing laboratory method for studying biomarkers of these disorders and for future drug development. This review summarizes the pluripotent stem cell based disease modeling literature in two important neuropsychiatric disorders, Alzheimer's disease and schizophrenia.

**Keywords:** induced pluripotent stem cell (iPSC), *in vitro* disease modelling, neuronal differentiation, schizophrenia, Alzheimer's disease