

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623312>

Судьба предшественников дофаминергических нейронов с низкой иммуногенностью, дифференцированных из ИПСК человека, при трансплантации в мозг крыс с 6-OHDA-индуцированным паркинсонизмом

Д.М. Воронков¹, О.С. Лебедева^{2*}, А.В. Ставровская¹, М.Е. Богомякова²,
А.С. Ольшанский¹, И.В. Копылова², А.С. Гущина¹, А.В. Симонова², Е.С. Ручко²,
С.Н. Иллариошкин¹, А.В. Еремеев², М.А. Лагарькова²

¹ Центр исследований мозга Научного центра неврологии РАН, Москва, Российская Федерация;

² Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Болезнь Паркинсона развивается в результате гибели дофаминергических нейронов чёрной субстанции, что может быть вызвано как факторами внешней среды, так и наследственными факторами. Медикаментозные методы лечения могут лишь замедлить развитие заболевания, но не излечить его. В связи с этим перспективным методом лечения может стать заместительная клеточная терапия. Хотя подобная технология уже была применена в США, для применения на территории России требуется проведение независимых клинических и доклинических испытаний. Технология ИПСК позволяет получать персонифицированные линии ИПСК для каждого пациента, что практически полностью нивелирует иммунный ответ. Хотя терапия аутологичными клетками идеально подходит теоретически, репрограммирование клеток пациента в ИПСК и их дальнейшая дифференцировка для каждого пациента дороги и длительны. В качестве альтернативы могут быть использованы дифференцированные производные низкоиммуногенных ИПСК, лишённых экспрессии HLA I класса. Такие клетки избегают Т-клеточного иммунного ответа, но другие минорные HLA и клетки врождённой иммунной системы, такие как макрофаги и NK-клетки, могут всё же способствовать развитию иммунного ответа, пусть и не такого сильного, как в случае аллогенной трансплантации. Такие клеточные продукты хоть и не позволяют полностью избежать иммунного ответа, но значительно его редуцируют, что, возможно, позволит использовать более мягкую иммуносупрессивную терапию. В настоящей работе по протоколу, ранее разработанному в лаборатории клеточной биологии, ИПСК, лишённые экспрессии HLA I класса, и ИПСК дикого типа были дифференцированы в предшественники дофаминергических нейронов среднего мозга. Была проведена подробная характеристика предшественников и показан правильный паттернинг. Такие предшественники были трансплантированы в мозг крыс с 6-OHDA-индуцированным паркинсонизмом и в течение 6 месяцев отслеживали их дифференцировку *in vivo* в сравнении со стандартной дифференцировкой *in vitro*. Был изучен системный воспалительный ответ животных на трансплантацию и биораспределение введённых клеток. Мы обратили внимание на слабо освещённый в литературе вопрос — какие клетки, кроме дофаминергических нейронов, образуются при дифференцировке трансплантата *in vivo*, поскольку клеточный состав может являться причиной побочных эффектов при клеточной терапии. По данным литературы, лишь около 3% трансплантированных клеток дифференцируются в дофаминергические нейроны, и этого достаточно для восстановления моторных функций у модельных животных. Мы обнаружили, что значительная часть предшественников дифференцируется в глиальные клетки. Была оценена динамика созревания нейронов трансплантата. Таким образом, мы приблизились к проведению доклинических испытаний клеточного продукта, детально охарактеризовав динамику созревания и состав трансплантата. Проведённое сравнение дифференцировки *in vivo* и *in vitro* позволит оценивать качество клеточного материала для трансплантации.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; ИПСК; низкоиммуногенные ИПСК; клеточная терапия; дифференцировка *in vivo*; 6-OHDA индуцированный паркинсонизм.

Как цитировать:

Воронков Д.М., Лебедева О.С., Ставровская А.В., Богомякова М.Е., Ольшанский А.С., Копылова И.В., Гущина А.С., Симонова А.В., Ручко Е.С., Иллариошкин С.Н., Еремеев А.В., Лагарькова М.А. Судьба предшественников дофаминергических нейронов с низкой иммуногенностью, дифференцированных из ИПСК человека, при трансплантации в мозг крыс с 6-OHDA-индуцированным паркинсонизмом // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 582–584. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623312>

Рукопись получена: 17.04.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Благодарности. Мы благодарим Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины за предоставление ресурсов для этого проекта.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* О.С. Лебедева; адрес: Российская Федерация, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: oslebedeva@rcpcm.org

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623312>

The fate of iPSCs-derived low immunogenic dopaminergic neuron precursors after transplantation into the striatum of rats with 6-OHDA-induced parkinsonism

D.M. Voronkov¹, O.S. Lebedeva^{2*}, A.V. Stavrovskaya¹, M.E. Bogomiakova²,
A.S. Olshanskiy¹, I.V. Kopylova², A.S. Gushchina¹, A.V. Simonova², E.S. Ruchko²,
S.N. Illarioshkin¹, A.V. Ereemeev², M.A. Lagarkova²

¹ Research Center of Neurology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

² Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Parkinson's disease arises from the demise of dopaminergic neurons in the substantia nigra resulting from both environmental and hereditary factors. Drug interventions can solely delay disease progression, but cannot provide a cure. Therefore, cell replacement therapy may represent a promising treatment approach. Although the United States has already employed this technology, independent clinical and preclinical trials are mandatory for its inclusion in Russia. The iPSC technology enables the acquisition of personalized iPSC lines for each patient, nearly eradicating the immune response. While autologous cell therapy is theoretically ideal, the reprogramming of patient cells into iPSCs and subsequent differentiation for each patient incurs time and cost. Alternatively, differentiated derivatives of low immunogenic iPSCs, lacking HLA class I expression, can serve as a substitute. These cells evade the T-cell immune response, but other minor HLAs and cells from the innate immune system, like macrophages and NK cells, could still participate in the immune response's development, although not as potent as in allogeneic transplantation. While these cell products don't escape the immune response entirely, they lessen it significantly, potentially enabling the use of less severe immunosuppressive therapy. In this study, a protocol previously established in the cell biology laboratory was used to differentiate iPSCs lacking HLA class I expression and wild-type iPSCs into midbrain dopaminergic neuron precursors. A thorough analysis of the forerunners was performed and demonstrated appropriate patterning. The progenitors were then implanted into the brains of rats with 6-OHDA-induced Parkinsonism and followed for 6 months to compare their *in vivo* differentiation to standard differentiation *in vitro*. In addition, the systemic inflammatory response of the animals to the transplantation and the biodistribution of the injected cells were investigated. The literature inadequately addresses the question of which cells, other than dopaminergic neurons, differentiate during *in vivo* graft differentiation and potentially cause side effects in cell therapy. The literature suggests that only approximately 3% of transplanted cells differentiate into dopaminergic neurons, which is adequate to improve motor function in model animals. We found that a significant proportion of the progenitors differentiate into glial cells. The dynamics of maturation of transplanted neurons was evaluated. Thus, we approached preclinical testing of the cell product after having characterized in detail the dynamics of maturation and the composition of the graft. Comparison of *in vivo* and *in vitro* differentiation will allow evaluation of the quality of cellular material for transplantation.

Keywords: Parkinson's disease; iPSCs; low immunogenic iPSCs; cell therapy; *in vivo* differentiation; 6-OHDA lesioned rats.

To cite this article:

Voronkov DM, Lebedeva OS, Stavrovskaya AV, Bogomiakova ME, Olshanskiy AS, Kopylova IV, Gushchina AS, Simonova AV, Ruchko ES, Illarioshkin SN, Ereemeev AV, Lagarkova MA. The fate of iPSCs-derived low immunogenic dopaminergic neuron precursors after transplantation into the striatum of rats with 6-OHDA-induced parkinsonism. *Genes & Cells*. 2023;18(4):582–584. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623312>

ADDITIONAL INFORMATION

Acknowledgments. We thank the Center for Precision Editing and Genetic Technologies for Biomedicine for providing resources for this project.

AUTHORS' CONTACT INFO

* O.S. Lebedeva; address: 1a Malaya Pirogovskaya street, 119435 Moscow, Russian Federation; e-mail: oslebedeva@rcpcm.org

Received: 17.04.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024