

Optimaliseren van een *in vitro* model dat gebruik maakt van menselijke stamcellen om het neurotoxisch risico van nieuwe stoffen te onderzoeken



Janssen

Contactpersoon: Piet Dierckx

Doel van de actie

Met deze actie draagt Janssen bij aan een potentiële vermindering van het absolute aantal proefdieren dat wordt gebruikt in het kader van neurotoxiciteitsstudies. Deze studies worden nu uitgevoerd met hersenculturen van ratten. Wanneer kan worden aangetoond dat we het neurotoxisch vermogen van stoffen even goed, of beter, kunnen voorspellen met neuronen afgeleid van menselijke stamcellen, kan een omschakeling worden gemaakt en zullen er geen knaagdieren meer nodig zijn om hersenculturen te bekomen.

Achtergrond van de actie

Een bedrijf dat een nieuw geneesmiddel op de markt brengt heeft een ethische en wettelijke plicht om potentiële veiligheidsrisico's van het nieuwe kandidaat-geneesmiddel in kaart te brengen. Dat is noodzakelijk om uit te sluiten dat de gezondheid van mensen die aan het geneesmiddel zullen worden blootgesteld geschaad zou kunnen worden. Het veiligheidsprofiel van kandidaat-geneesmiddelen wordt o.a. bekomen met behulp van computermodellen, bacterieculturen, cel-gebaseerde en andere methoden die al van in de vroege fase helpen om de meest beloftevolle (d.w.z. zowel therapeutisch effectief als lage veiligheidsrisico's) kandidaat-geneesmiddelen te selecteren en verder te ontwikkelen.

Om dat doel te bereiken past Janssen onder meer een micro-elektrode array (MEA) test toe om na te gaan in welke mate nieuwe stoffen potentieel neurotoxisch zijn. Deze MEA-test is een *in vitro* test (wetenschappelijk onderzoek in een kunstmatige omgeving en dus niet in een lichaam). Hersencellen van ratten worden gekweekt in een proefbuis en via micro-elektrodes verbonden met een elektrisch circuit. Hierdoor wordt het mogelijk om de impact van chemische stoffen zoals potentieel nieuwe geneesmiddelen op de elektrische geleiding van hersencircuits na te gaan. Door gebruik te maken van de MEA-test kan het aantal nieuwe stoffen dat op levende dieren getest moet worden om uit te maken of ze neurotoxisch zijn sterk verminderd worden.

De modellen op basis van stamcellen zijn op dit moment echter nog niet voldoende ontwikkeld en betrouwbaar. Om deze hersencelculturen te bekomen, blijft het daarom voorsnog noodzakelijk om de hersenen te collecteren van rattenpups. Alhoewel meerdere MEA-testsystemen opgezet kunnen worden met één rat, blijft het noodzakelijk om hiervoor ratten te euthanaseren als bron van hersenweefsel. Daarnaast is het aanmaken van de celculturen ook nog eens arbeidsintensief en zijn ze niet geschikt voor het testen van grote aantallen moleculen.

Omschrijving van de actie

In een poging om het gebruik van proefdieren verder te verminderen en de voorspellende waarde van deze modellen voor effecten bij de mens verder te verhogen, zet Janssen in op het ontwikkelen van een testmodel op basis van hersencellen uit commercieel beschikbare cellijnen van menselijke stamcellen. Janssen slaagde er eerder al in om vertrekkende van humane stamcellen een hersencultuur op te zetten die geschikt zou moeten zijn voor toepassing in een *in vitro* testsysteem (Shih *et al.*, 2021)⁵. Janssen toonde daarbij aan dat het belangrijk is om niet alleen zenuwcellen, maar ook andere type cellen die in de hersenen gevonden worden (bijvoorbeeld steuncellen) mee in cultuur te brengen. Het onderzoek dat zij nu gaat opstarten omvat het evalueren van twee modellen die elkaar potentieel kunnen aanvullen:

- Janssen zet in op de ontwikkeling en validering van een zogenaamd '*Ca transient model*', waarmee gekeken kan worden naar het al dan niet verstorende effect van kandidaat-geneesmiddelen op intracellulaire calciumwaarden (deze waarde is normaliter verhoogd na neuronactiviteit). Dit onderzoek omvat de volgende stappen:
 - Ontwikkeling van een celcultuur waarin goede cellulaire netwerkverbindingen gemaakt worden;

⁵ Shih PY, Kreir M, Kumar D, Seibt F, Pestana F, Schmid B, Holst B, Clausen C, Steeg R, Fischer B, Pita-Almenar J, Ebneith A, Cabrera-Socorro A. Development of a fully human assay combining NGN2-inducible neurons co-cultured with iPSC-derived astrocytes amenable for electrophysiological studies. *Stem Cell Res.* 2021 Jul; 54:102386. DOI: 10.1016/j.scr.2021.102386. Epub 2021 May 24. PMID: 34229210.

- Evaluatie van tot wel 100 referentiestoffen;
- Verdere verfijning van de testopzet in functie van mogelijke vastgestelde tekortkomingen;
- Als de test gevalideerd kan worden, wordt het model toegepast bij de screening van stoffen op hun neurotoxisch vermogen.
- Een poging om een MEA-test te ontwikkelen gebaseerd op humane stamcellen (i.p.v. hersencellen van ratten). Een MEA-test zal meer inzicht geven in het risico van verbindingen om convulsies (d.w.z. stuip trekkingen van hersencellen) uit te lokken, terwijl het '*Ca transient model*' een beeld geeft van neurotoxiciteit. Voor het opzetten van de MEA-test op basis van pluripotente stamcellen engageert Janssen zich aan de volgende stappen:
 - Ontwikkeling van een celcultuur op een MEA waarin goede cellulaire netwerkverbindingen gemaakt worden;
 - Evaluatie van tot 25 referentiestoffen;
 - Vergelijking met het *Ca Transient Model*;
 - Indien kan worden aangetoond dat de test meerwaarde heeft, wordt het model toegepast bij de screening van stoffen op hun neurotoxisch vermogen.

Resultaten van de actie

Janssen verwacht de actie te hebben afgerond tegen de zomer van 2025. Hierbij dient opgemerkt te worden dat er tijdens het proces altijd onverwachte uitkomsten kunnen worden waargenomen waardoor tijdslijnen en succes niet kan worden gegarandeerd.