

Psykiske lidelser, mesenchymal stamcelle funktion, basale cellulære funktioner og retrovirus



Lene Pedersen

Institut for Molekylærbiologi og Genetik
LP@mbg.au.dk - kontor 561, bygning 1874



Uorganisk fosfat (Pi's) og Pi importørers roller i basale cellefunktioner og i sygdom

Baggrund

Uorganisk fosfat (Pi) er over de seneste år gået fra at være livsvigtig – men harmløs – til et signal-molekyle, som kan påvirke mange cellulære funktioner, enten direkte – eller indirekte gennem de to allestedsnærværende Pi-importører PiT1 og PiT2, kodet for af henholdsvis *SLC20A1* og *SLC20A2*. Påvirkninger som kan føre til forskellige sygdomme. Indenfor de senere år er der stigende bekymring over den mulige sammenhæng mellem ubalanceret indtag af fosfor og udvikling og/eller forværring af en række livsstilssygdomme.

Effekten af et forhøjet Pi niveau i blodet er bedst kendt i forbindelse med kronisk nyresygdom, som er en hyppig konsekvens af diabetes type 1 og 2. Det forhøjede blod Pi niveau øger risikoen for hjerte-kar-sygdom herunder vaskulær forkalkning (aflejring af calcium-fosfat). Hos kronisk nyresyge er der en direkte sammenhæng mellem øget dødelighed - hovedsagelig af kardiovaskulære årsager - og stærkt forhøjet blod Pi niveau. Forskningsresultaterne peger på, at et højt blod Pi niveau og ændringer i PiT1 og PiT2 udtrykket, kan drive fænotypiske ændringer i de glatte muskelceller i blodkarrene til en celletype, der forkalker omgivelserne. Disse patienter har også forhøjet Pi niveau i hjernevæsken og har hyppigt psykiske lidelser.

PiT2 – og muligvis Pi niveauet i hjernevæsken – er vigtig for normal hjernefunktion. Mutationer i PiT2, som mindsker udtrykket af funktionel PiT2, er forbundet med udvikling af sygdommen primary brain calcification (PBC). Tidligt i sygdomsforløbet kan patienterne udvikle hallucinationer, vrangforestillinger, mani, manio-depressivitet, angst, ADHD, skizofreni, personlighedsforstyrrelser, og/eller depression. Et senere symptom er f.eks. demens. Mus med knockout (KO) af PiT2 udvikler ændringer i hjernen, som ses hos PBC patienter. Det er f.eks. forhøjet Pi niveau i hjernevæsken, intracellulær forkalkning i flere af hjernens celletyper, og degeneration af astrocytter. Derudover har vi identificeret adfærdsændringer i musene.

PiT1 og PiT2 påvirker begge forskellige basale cellefunktioner – nogen af disse effekter er vist, at være uafhængige af PiT proteinernes Pi transport funktion.

Vores forskning fokuserer på funktionen af Pi og PiT proteiner

- i neurodegeneration og psykiske lidelser
- i cellulære funktioner generelt, inklusive af betydning for sygdomme uden for hjernen

Retrovirus – celle interaktioner

Baggrund

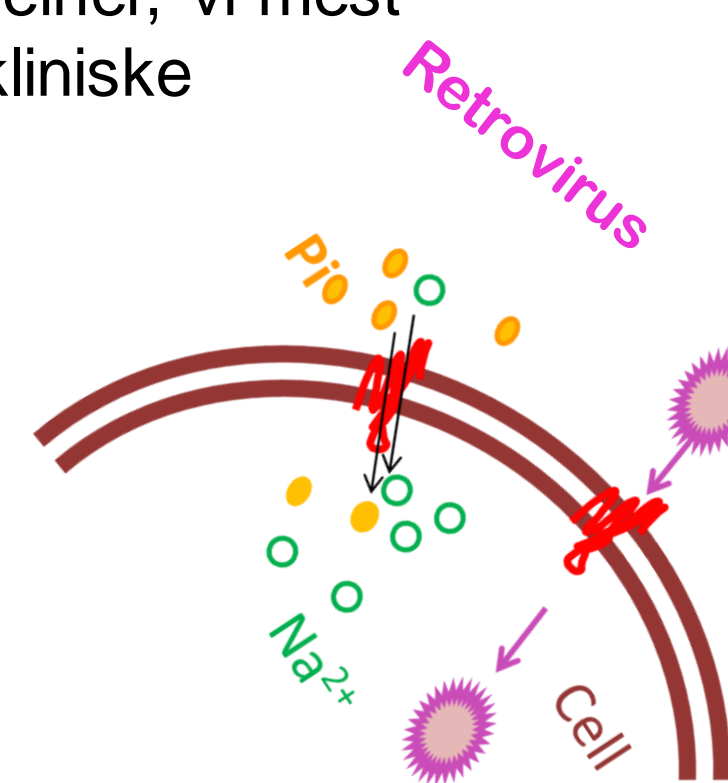
Vira er i høj grad afhængige af værtscellens funktioner. På trods af virus enkelthed er deres indbyrdes forhold med værtscellerne komplekse.

Retro- og lentivira bruges til genoverførsel i genterapisammenhæng og i forskning. De virale overfladeproteiner, vi mest fokuserer på, kan inficere humane celler via PiT1 og/eller PiT2 og er anvendt til at pseudotype vektorer i kliniske genterapi protokoller.

Vores forskning fokuserer på

- interaktionen mellem vira og deres receptorer
- nedenstrøms effekter i celler udløst af virus-receptor interaktion

Desuden bruger vi retrovirale vektorer til følge udtryk af vildtype og mutant PiT1 og PiT2 proteiner.



Teknikker:

Vi anvender forskellige metoder indenfor

- molekylærbiologi (site-directed mutagenese, tagging af receptorer og virusproteiner, kvantitativ PCR etc.),
- cellebiologi (etablering af primære cellekulturer fra f.eks. hjerne, knoglemarv, og fedt), flow cytometri, fluorescens mikroskopi, RNAi teknologi, membrantransport assays, assays for forskellige intracellulære cellesignaleringsveje etc.),
- proteinkemi (ELISA, small scale proteinoprensning, immunblot etc.),
- dyreforsøg (mus herunder isolering af væv og adfærdsforsøg (ved rettidig tilmelding er der mulighed for deltagelse i et dyreforsøgskundskabskursus udbudt af Bioscience, som giver lov til at håndtere levende mus))
- retrovirologi og retroviral vektorteknologi.

De to hovedfokusområder overlapper metodemæssigt, idet vi udnytter

- at fosfatimportørerne PiT1 og PiT2 også er receptorer for retrovirus
- at de gammaretrovira, vi hovedsagligt studerer, bruger fosfatimportørerne PiT1 og PiT2 som receptorer.

Mulige projekter vil ligge indenfor følgende områder:

Cellulær differentiering, hvor vi fokuserer på:

- Pi og PiT proteinernes rolle i differentiering af mesenchymale/stromale stamceller til osteoblaster og fedtceller og funktionen af differentierede celler

Neurodegenerative sygdomme/psykiske lidelser, hvor vi fokuserer på:

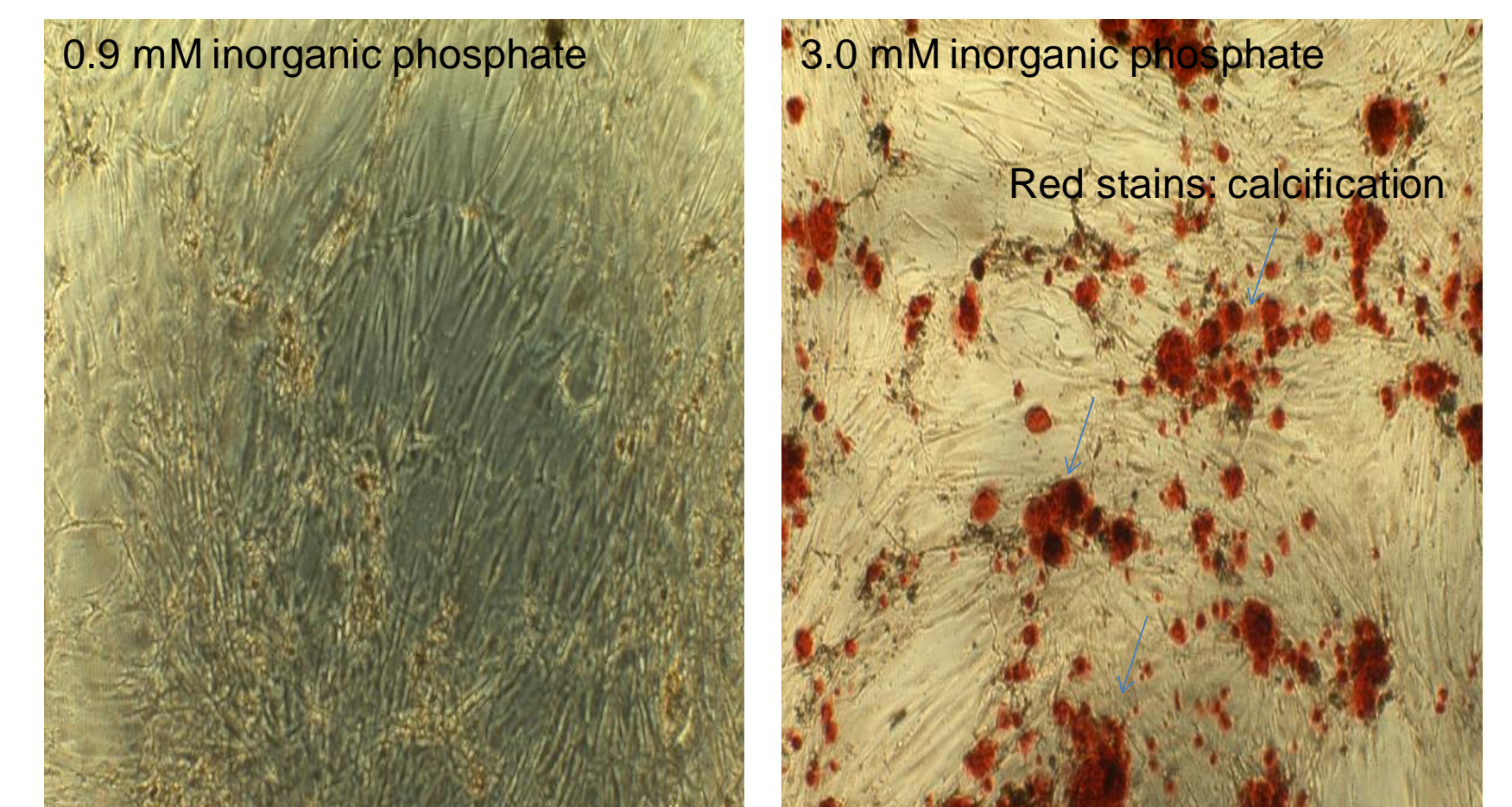
- Pi og PiT proteinernes rolle i hjernens celler og udvikling af psykiske lidelser ved brug af musemodeller og celler afledt af disse

PiT1 og PiT2 og interagerende proteiner, hvor vi fokuserer på:

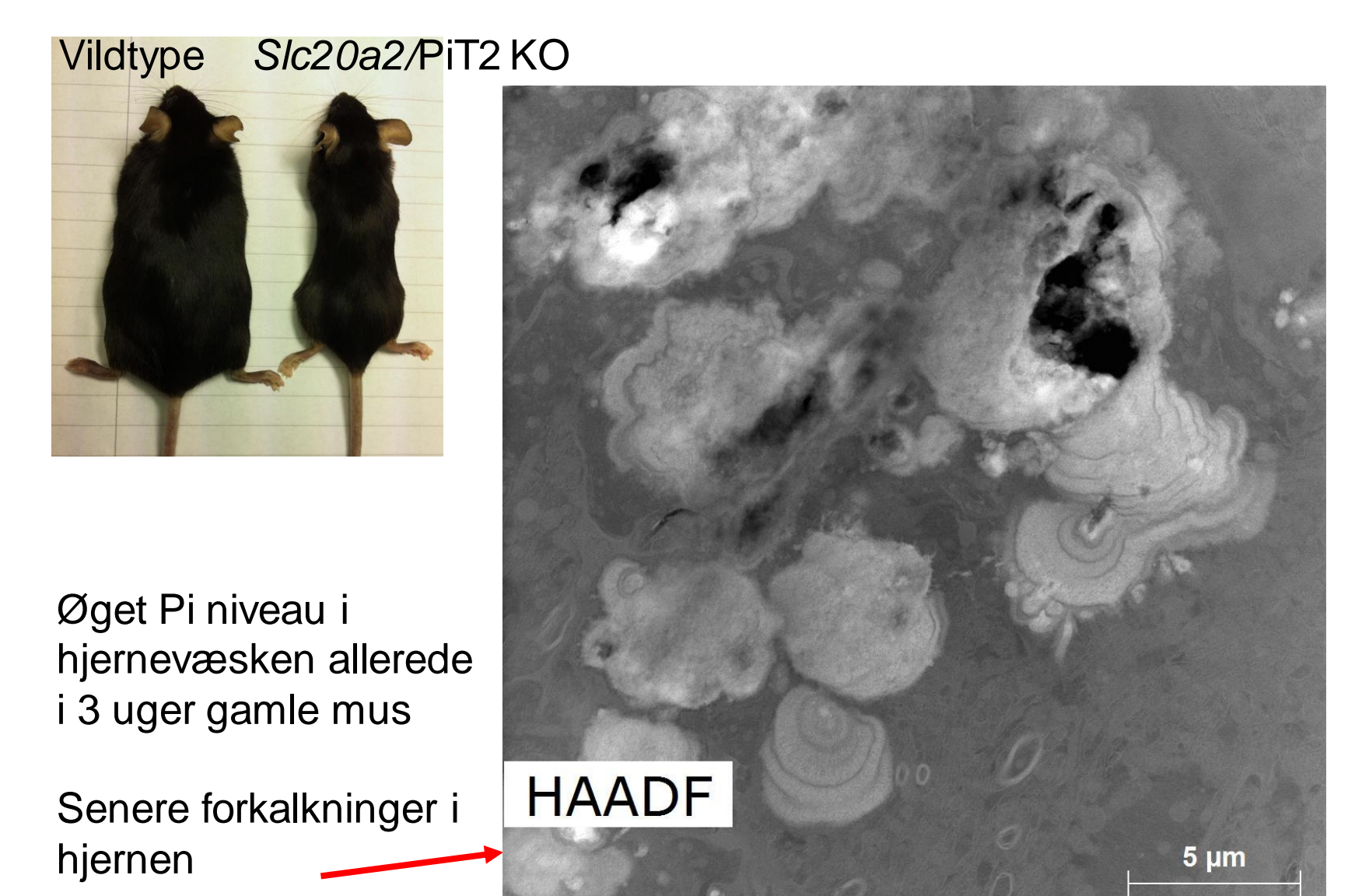
- PiT1's og PiT2's cellulære funktioner
- regulering af PiT1 og PiT2
- fosfats og PiT1's og PiT2's involvering i basale cellulære funktioner
- fosfat og PiT1 og PiT2 i cellesignalering

Retrovirologi, hvor vi fokuserer på:

- interaktioner mellem retrovirus og deres receptorer, fosfatimportørerne PiT1 og PiT2, og effekten på celler

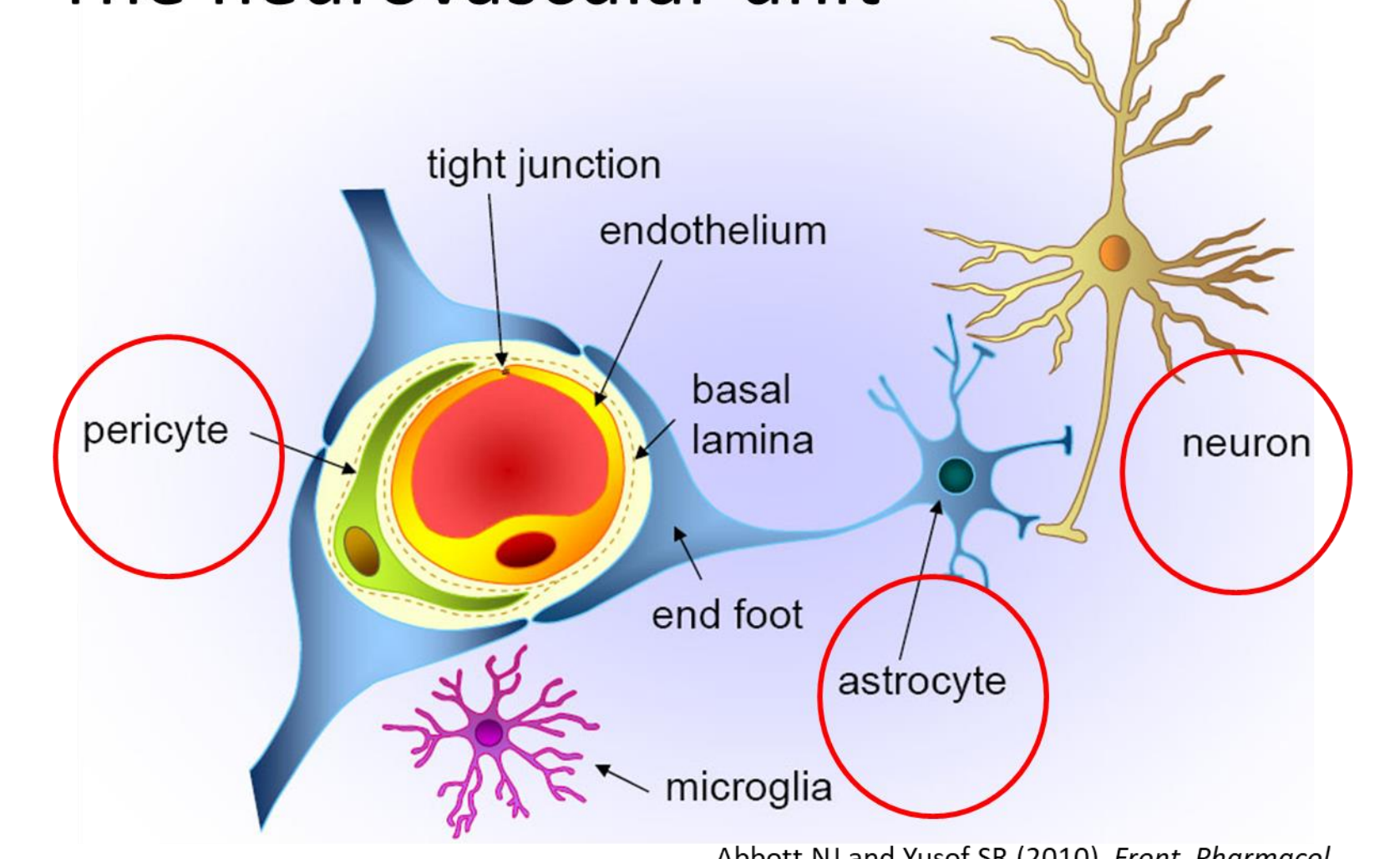


Vaskulære glatte muskelceller differentierer til en osteogen fænotype og danner Ca-Pi mineral, når de dyrkes med koncentrationer af uorganiske fosfat svarende til dem, der forekommer hos nyrepatienter og diabetikere.

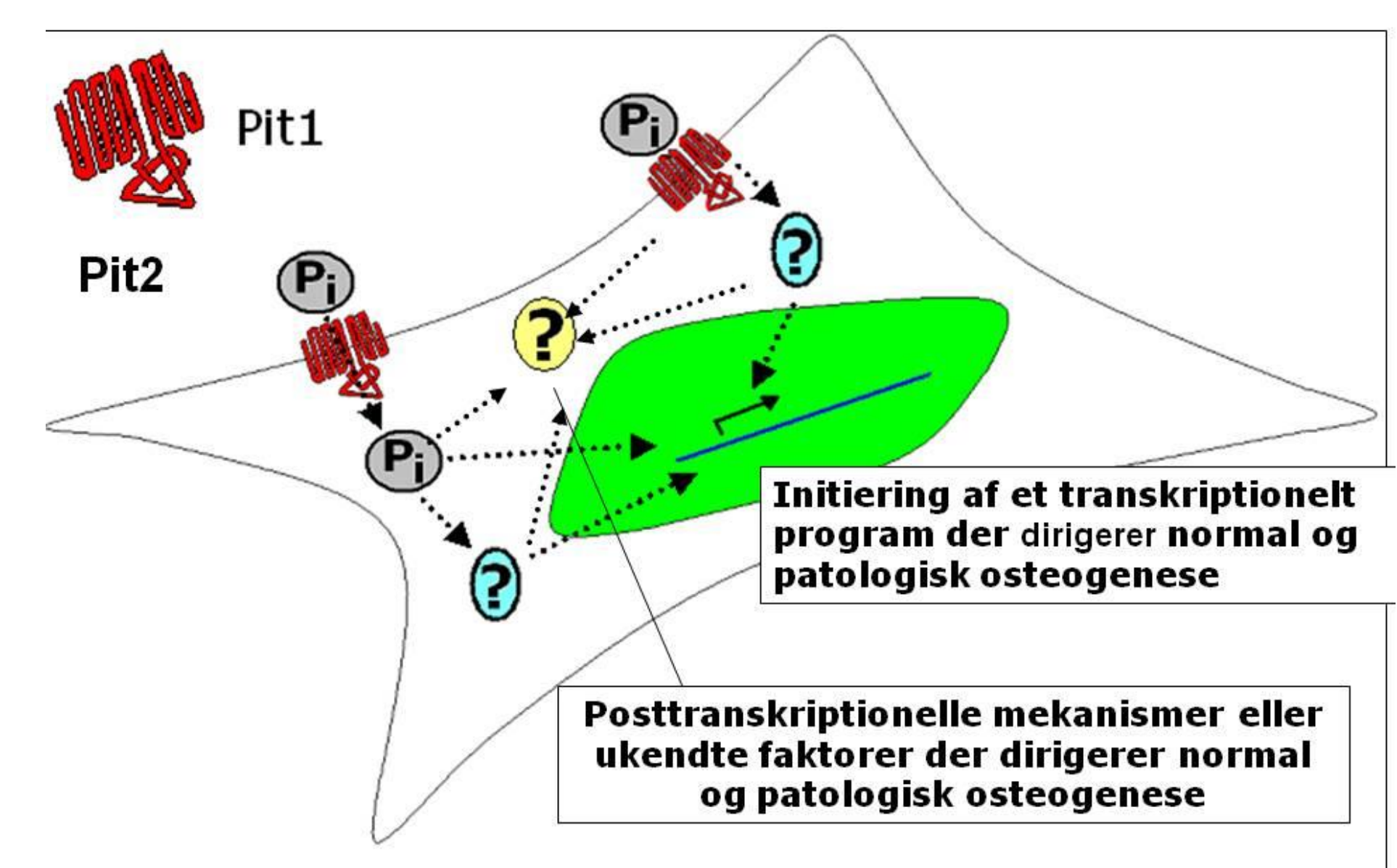


Øget Pi niveau i hjernevæsken allerede i 3 uger gamle mus
Senere forkalkninger i hjernen

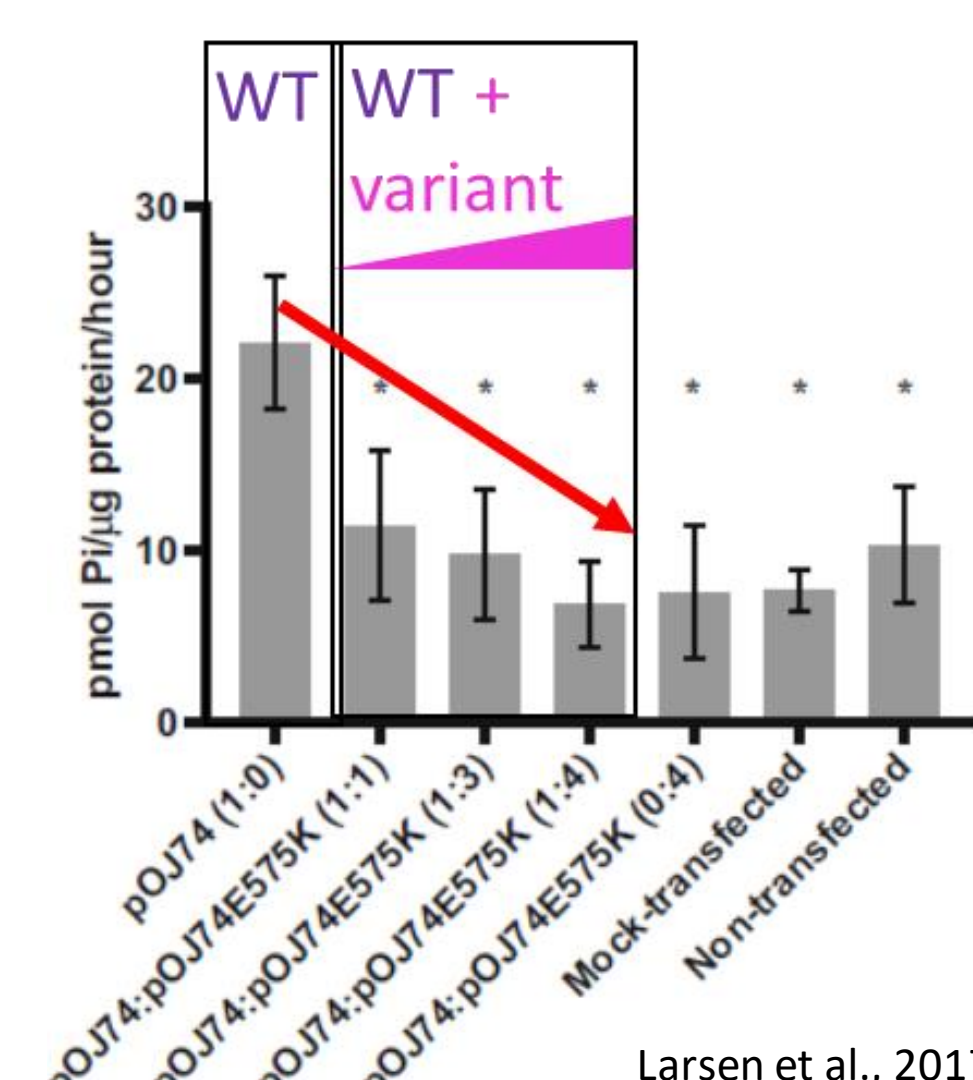
The neurovascular unit



Slc20a2/PiT2 KO medfører forkalkninger i pericytter, astrocytter og neuroner – og degenererede astrocytter (Jensen et al. 2018)



PiT2 Pi-transport-KO varianter, som forårsager primary brain calcification (PBC), kan udøve dominant negative effekter på vildtype (WT) PiT2 Pi transport funktion, når variant og WT proteinerne er udtrykt sammen.



Celler: PiT2-KO fibroblaster pOJ74: koder for vildtype (WT) PiT2

Relevans for patienter:
Den *SLC20A2/PiT2* variant, som en patient bærer, kan påvirke en større nedregulering af funktionel PiT2 end manglende udtryk fra en allel.

Dette kunne bidrage til forskelle i symptomer, og hvor alvorlige symptomerne er.