

Neuromuskuläres Organoid: Es kontrahiert!

Neues Forschungsmodell für neuromuskuläre Entwicklung und Erkrankungen: Erstmals sind im Labor aus einem Typ von Vorläuferzellen zwei menschliche Gewebearten hervorgegangen, die gemeinsam ein funktionsfähiges neuromuskuläres Organoid bilden.

Die Arbeitsgruppe von Dr. Mina Gouti am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin in der Helmholtz Gemeinschaft (MDC) hat funktionsfähige neuromuskuläre Organoiden (NMO) entwickelt, die sich selbstständig in Rückenmarksneuronen und Muskelgewebe organisiert haben. Die beiden Zelltypen bilden gemeinsam ein komplexes neuronales Netzwerk, das Muskelgewebe kontrahieren lässt. Diese Organoiden stellen Forschende in der Fachzeitschrift *Cell Stem Cell* vor. Sie sind ein Durchbruch im Forschungsbereich der neuromuskulären Entwicklung und Erkrankungen beim Menschen.

Fortbewegung entsteht, wenn ein komplexes neuronales Netzwerk rhythmische Muster von neuronaler Aktivität generiert. Störungen in diesem Netzwerk führen zu unheilbaren neuromuskulären Erkrankungen, Lähmung und Tod. Bislang gab es kaum verlässliche humane Zellkulturmodelle, die es erlauben Krankheiten des neuromuskulären Systems zu erforschen.

© Jorge Miguel Faustino Martins, MDCLive-Abbildung der Muskelkontraktion und der neuronalen Aktivität im neuromuskulären Organoid.

Mit einigen einzigartigen Eigenschaften sind die Organoiden ein attraktives Untersuchungsmodell. Eine Schlüsseleigenschaft ist die Entwicklung der motorischen Endplatten, das sind die Verbindungsstellen zwischen Neuronen und Muskelzellen und Übertragungsort für Signale, die zu Bewegungen führen. Innerhalb der Organoiden sind zum ersten Mal Rückenmarksneuronen, Skelettmuskeln und Schwann-Zellen gleichzeitig aus denselben Vorläuferzellen entstanden, sowie motorische Endplatten. Außerdem entwickelte sich ein komplexer Schaltkreis, der die Zentrale Mustergeneratoren-Schaltungen (ZMG) nachahmt, indem er oszillierende rhythmische Signale aussendet, die wesentlich für das Atmen und Laufen sind.

„Unser ursprüngliches Ziel bestand darin, die motorische Endplatte zu entwickeln. Was wir gefunden haben übertraf jedoch unsere Erwartungen – das zusätzlich ZMG-artige Netzwerke entstanden sind, ist eine aufregende, aber unerwartete Entdeckung“, sagt Gouti, Leiterin der Arbeitsgruppe „Stammzellen-Modellierung der Entwicklung und Erkrankung“. „Bisher wurde soetwas noch nicht an einem menschlichen *in vitro*-Modell gezeigt. Es eröffnet vollkommen neue Möglichkeiten, wie etwa die Erforschung der ZMG innerhalb von neurodegenerativen Erkrankungen.“

Die Zwei-in-eins-Herausforderung

Organoiden sind vereinfachte organartige Strukturen in Miniaturformat, erschaffen im Labor. Herstellungstechniken aus unterschiedlichen Gewebearten wurden im letzten Jahrzehnt weiterentwickelt. Ein einzelnes Organoid, das aus zwei sich gleichzeitig entwickelnden Gewebearten besteht, blieb jedoch lange eine große Herausforderung: Um die motorische Endplatte zu erforschen, wurden beispielsweise Rückenmarksneuronen und Muskeln zunächst getrennt

voneinander gezüchtet. Dann führte man sie zusammen, damit sie miteinander interagieren konnten. So haben sich zwar Verbindungen gebildet, die jedoch nur eingeschränkt funktionierten, teilweise lag das am Fehlen der essenziellen Schwann-Zellen.

„Kombiniert man einzelne Muskel- oder Neuronen-Systeme miteinander, kommt man schnell an seine Grenzen“, sagt Jorge-Miguel Faustino Martins, Erstautor und Biotechnik-Doktorand in Goutis Arbeitsgruppe. „Das ist nicht zu vergleichen mit dem was im Embryo geschieht, wo sich beides gleichzeitig entwickelt. Indem man das Potenzial von Stammzellen mit der Organoid-Technologie verknüpft, entstehen aus neuromuskulären Organoiden spannende Forschungsmodelle für Krankheiten oder für Entwicklungsstudien. So können wir die Bildung komplexer neuromuskulärer Schaltkreise in Echtzeit in einer 3D-Mikroumgebung analysieren, die jener in einem Embryo näher kommt.“

Die Wichtigkeit des richtigen Vorläuferzelltyps

Um diese Herausforderung zu meistern, machten Gouti und Kolleg*innen von einer früheren Entdeckung Gebrauch: Pluripotente humane Stammzellen in axiale Stammzellen umwandeln. Von den axialen Stammzellen ist bekannt, dass sie während der normalen Embryonalentwicklung sowohl Rückenmark als auch Skelettmuskulatur ausbilden. Der gewünschte Typ axialer Stammzellen waren in diesem Fall neuromesodermale Vorläuferzellen.

In einer 3D-Zellkultur differenzierten sich die Stammzellen aus und organisierten sich von selbst zu komplexen Strukturen, die aus Rückenmarksneuronen und Skelettmuskelgewebe bestehen. So entwickelten sich motorische Endplatten mit terminalen Schwann-Zellen und komplexe spinale neuronale Netzwerke, ähnlich der zentralen Mustergeneratoren (ZMG).

„Auffällig ist, dass sich die beiden unterschiedlichen Gewebe in 3D selbst organisierten und funktionale Netzwerke entwickeln können“, sagt Gouti. „Diese Organoiden kontrahierten nach 40 Tagen in der Zuchtkultur. Ihre Aktivität beruht nicht etwa auf spontaner Muskelaktivität, sondern auf dem Neurotransmitter Azetylcholin, der von örtlichen Motoneuronen abgesondert wird. Das wurde deutlich, als wir die Azetylcholin-Rezeptoren pharmakologisch blockierten, was die Muskelkontraktion unterband.“

Die Organoiden wachsen zu einer Größe von durchschnittlich 6 Millimetern Durchmesser heran und können für etliche Monate im Labor am Leben erhalten werden, ohne dass sich ihr Zustand verschlechtert. Die gegenwärtig ältesten neuromuskulären Organoiden existieren seit eineinhalb Jahren in Zuchtkultur. Wichtig ist: Analysen haben gezeigt, dass neuromuskuläre Organoiden mit ähnlicher Effizienz aus unterschiedlichen menschlichen pluripotenten Stammzelllinien gebildet werden können. Dieser breite Ansatz eignet sich insbesondere für die Erforschung neuromuskulärer Erkrankungen und nutzt dabei induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen) von Patient*innen.

Ein Modell für neuromuskuläre Erkrankungen

Das Potenzial von NMO als Forschungsmodell für neuromuskuläre Erkrankungen, testeten die Wissenschaftler*innen anhand einer Autoimmunerkrankung: Bei Myasthenia Gravis ist die Signalübertragung an der motorischen Endplatte gestört. Behandelten die Forschenden Organoiden 72 Stunden lang mit dem Serum von zwei Patient*innen, führte dies zu weniger Muskelkontraktionen, was die Muskelschwäche der Erkrankten widerspiegelt.

„Dieses Ergebnis fasst Schlüsselaspekte der Krankheitssymptomatik zusammen und legt nahe, dass neuromuskuläre Organoiden zuverlässig neuromuskuläre Erkrankungen modellieren können“, so Dr. Simone Spuler, eine der Co-Autorinnen der Veröffentlichung und Leiterin der Arbeitsgruppe

„Myologie“.

Die unterschiedlichen genetischen Ursachen und das variable Auftreten von lähmenden neuromuskulären Erkrankungen, wie etwa die Spinale Muskelatrophie oder Amyotrophe Lateralsklerose, waren eine große Herausforderung, um patient*innenspezifische Therapien zu entwickeln. „Die Verwendung von NMO mit iPS-Zellen von Patient*innen ermöglicht uns in Zukunft, die Entstehung und den Verlauf von Krankheiten zu untersuchen. Diese Organoiden sind besser als herkömmliche geeignet, die Rolle bestimmter Zelltypen während der Bildung und Reifung der motorischen Endplatte zu erforschen – beispielsweise die der terminalen Schwannzellen bei der Entwicklung von bestimmten Krankheiten“, sagt Gouti. Zukünftige Studien werden patient*innenbasierte neuromuskuläre Organoiden nutzen, um die Wirkung von unterschiedlichen Arzneimitteln festzustellen und individualisierte medizinische Ansätze zu verfolgen.

Text: Laura Petersen

Weiterführende Informationen

Gouti Lab

- [Mini-Organe aus Stammzellen](#)
- [Das Gehirn im Labor](#)
- [Kleine Alternativen zum Tierversuch](#)

Downloads

[Video](#): Live-Bildgebung von Muskelkontraktion und neuronaler Aktivität im neuromuskulären Organoid. Jorge Miguel Faustino Martins, MDC

[Bild](#): Neuromuskuläres Organoid, 100 Tage lang im Labor kultiviert, mit einem neuronalen (grün) und einem muskulären (violett) Teil. Jorge Miguel Faustino Martins, MDC

Literatur

Faustino Martins JM et al.: „Self-organizing 3D human trunk neuromuscular organoids, [Cell Stem Cell](#), DOI: [10.1016/j.stem.2019.12.007](#)