



### Marcel Leist

1985–1989 Biochemie- und Toxikologiestudium an den Universitäten Tübingen und Guildford, Surrey, UK. 1990–1999 Promotionsstudium in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. A. Wendel, Biochemische Pharmakologie, Universität Konstanz. 2000–2006

Hauptabteilungsleiter in der Neurodegenerations- und Psychiatrieforschung bei der Firma Lundbeck A/S, Kopenhagen, Dänemark. Seit 2006 Ordinarius für *in vitro*-Toxikologie und Biomedizin als Fortsetzung des ursprünglich von der Doerenkamp-Zbinden-Stiftung angefinanzierten Lehrstuhls für Alternativmethoden zum Tierversuchersatz.

Entwicklungstoxizität ist bisher schwer voraussagbar, sei es auf Basis von tierexperimentellen Befunden oder durch *in vitro*-Testmethoden [1, 2]. Unser Labor entwickelt neue Testmethoden, die auf spezialisierten menschlichen Zellpopulationen basieren. Dabei interessieren wir uns sowohl für Entwicklungsneurotoxizität, also spezifische Effekte auf sich entwickelnde Nervenzellen, als auch toxische Effekte auf verschiedene wichtige Vorläuferzelltypen der Gewebsentwicklung. Dabei nehmen Neuralleistenzellen (NLZ) eine besondere Rolle ein. Diese bilden sowohl das periphere Nervensystem (z. B. sensorische Neuronen oder das Darmnervensystem) als auch vollkommen andere Gewebestandteile, wie die Melanozyten der Haut oder Knorpel und Knochen des Gesichts. Eine ihrer wichtigsten Funktionen ist die Wanderung über weite Strecken hinweg im fötalen Körper, um von

## GT-Toxicology-Preis 2017

# Entwicklungstoxikologische *in vitro*-Tests mit humanen Zellen

MARCEL LEIST

THE DOERENKAMP-ZBINDEN CHAIR OF IN-VITRO TOXICOLOGY AND BIOMEDICINE, UNIVERSITÄT KONSTANZ

ihrem Bildungsort oberhalb des Neuralrohrs in die entsprechenden Zielgewebe zu gelangen. Die bekannteste und häufigste NLZ-Fehlentwicklung ist die Hasenscharte. NLZ kommen nicht im erwachsenen Menschen vor und sind nicht als Zelllinie verfügbar. Sie können daher nur aus Stammzellen hergestellt werden (Abb. 1).

Zusammen mit führenden US-Forschern entwickelten wir eine Methode, diese Zellen aus pluripotenten Zellen zu erzeugen und in reproduzierbarer Qualität für toxikologische Tests einzusetzen [3]. Ein Hindernis für diese Forschung ist, dass die quantitative Erfassung der Migration mit klassischen Methoden der Zellbiologie keinen hohen Testdurchsatz erlaubt. Deshalb wurde ein Test entwickelt, der auf einem automatisierten Screen-Mikroskop durchführbar ist und dessen Auswertung durch eine eigens entwickelte Software unabhängig vom Experimentator geschieht [4]. Der NLZ-Migrationstest wurde auch zum Kernstück der ersten Testbatterie für Entwicklungsneurotoxikantien innerhalb eines europäischen Forschungskonsortiums. Im Verlauf des Screens wurde das Gefährdungspotenzial einiger Pharmazeutika aufgedeckt [5].

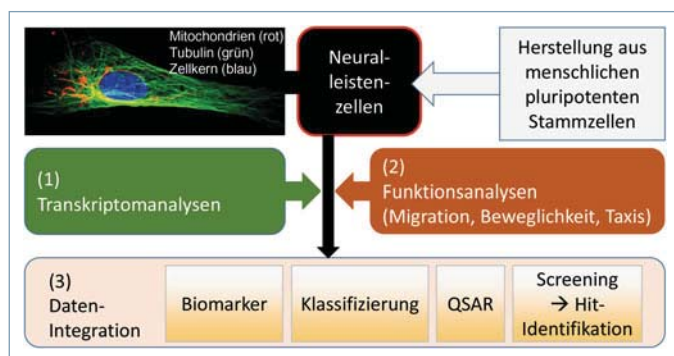
Darunter wurde insbesondere der Wirkmechanismus für Interferon-beta weiter charakterisiert und aufgeklärt. In diesem Fall erwies sich der Vorteil des auf menschlichen Zellen beruhenden Tests in besonderem Maße, da diese Testsubstanz nicht mit entsprechenden Nagerrezeptoren reagiert [6]. Für die positiven Treffer der Testbatterie wurden auch die transkriptionellen Änderungen eingehend charakterisiert, um Vorhersagemodelle aufzustellen, die es dann erlaubten, in einem „Blindversuch“ Toxikantien aufgrund ihrer Transkriptionsmuster zu identifizieren [7]. Parallel zu diesem genomweiten Charakterisierungsansatz wurde eine biologisch basierte Liste an Kandidatenbiomarkern erstellt, um auszutesten, inwieweit sich unbekannte Substanzen aufgrund ihres biologischen Fingerabdrucks einer mechanistisch bekannten Gruppe von Toxikantien zuordnen ließe. Auf diese Weise konnte bestimmt werden, dass Valproinsäure aufgrund seiner Fähigkeit, Histondeacetylasen zu hemmen, zu entwicklungsstoxischen Veränderungen, wie Spina bifida, führt [8]. Neben diesen eher mechanistisch orientierten Ansätzen war es wichtig, die praktische Anwendbarkeit der NLZ-Funktionstests im Rahmen des Screenprogramms der Umweltbehörde in den USA (EPA) gezeigt (Abb. 1).

## Literatur

- [1] Smirnova L, Hogberg H, Leist M et al. (2014) Developmental neurotoxicity – challenges in the 21st century and *in vitro* opportunities. *ALTEX* 31:129–156
- [2] Schmidt BZ, Lehmann M, Gutbier S et al. (2017) *In vitro* acute and developmental neurotoxicity screening: an overview of cellular platforms and high-throughput technical possibilities. *Arch Toxicol* 34:1–33
- [3] Zimmer B, Lee G, Balmer NV et al. (2012) Evaluation of developmental toxicants and signaling pathways in a functional test based on the migration of human neural crest cells. *Env Health Perspect* 120:1116–1122
- [4] Nyffeler J, Karremann C, Leisner H et al. (2017) Design of a high-throughput human neural crest cell migration assay to indicate potential developmental toxicants. *ALTEX* 34:7555–7594
- [5] Zimmer B, Pallocca G, Dreser N et al. (2014) Profiling of drugs and environmental chemicals for functional impairment of neural crest migration in a novel stem cell-based test battery. *Arch Toxicol* 88:1109–1126
- [6] Pallocca G, Nyffeler J, Dolde X et al. (2017) Impairment of human neural crest cell migration by prolonged exposure to interferon-beta. *Arch Toxicol*, doi: 10.1007/s00204-017-1966-1
- [7] Pallocca G, Grinberg M, Henry M et al. (2016) Identification of transcriptome signatures and biomarkers specific for potential developmental toxicants inhibiting human neural crest cell migration. *Arch Toxicol* 90:159–180
- [8] Dreser N, Zimmer B, Dietz C et al. (2015) Grouping of histone deacetylase inhibitors and other toxicants disturbing neural crest migration by transcriptional profiling. *Neurotoxicology* 50:56–70

## Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Marcel Leist  
The Doerenkamp-Zbinden Chair of *in-vitro* Toxicology and Biomedicine  
Universität Konstanz  
Postfach M657  
D-78457 Konstanz  
Tel.: 07531-88-5037  
marcel.leist@uni-konstanz.de  
<http://cms.uni-konstanz.de/leist/>



▲ **Abb. 1:** Die Grundlage der Forschung ist die Generierung von Neuralleistenzellen aus pluripotenten Stammzellen. Verschiedene Endpunkte werden an den Zellen in der Gegenwart von möglichen Toxikantien oder negativen Kontrollbedingungen erfasst. (1) Die Änderung der transkriptionellen Aktivität wird genomweit über Mikroarrays erfasst. (2) Parallel werden Funktionsanalysen durchgeführt. Die Tests erfassen unterschiedliche Aspekte der Zellbeweglichkeit (z. B. gerichtete vs ungerichtete Bewegung). (3) Daten zu physikochemischen Eigenschaften und der Struktur von Testchemikalien werden mit Daten aus Transkriptom- und Funktionsanalysen kombiniert, bzw. für Modellierungen und weitergehende statistische Verfahren verwendet. Eine weitere Anwendung war die Optimierung des Systems für Screeningdurchsatz, und die Ausarbeitung von Algorithmen für die Hit-Identifikation und für Prädiktionsmodelle.