

Neurobiology of Disease

Human iPSC-Derived Microglia Sense and Dampen Hyperexcitability of Cortical Neurons Carrying the Epilepsy-Associated *SCN2A*-L1342P Mutation

Zhefu Que,^{1,2*} Maria I. Olivero-Acosta,^{1,2*} Morgan Robinson,^{1,2,3} Ian Chen,^{1,2}  Jingliang Zhang,^{1,2} Kyle Wettschurack,^{1,2} Jiaxiang Wu,^{1,2}  Tiange Xiao,^{1,2} Conrad Max Otterbacher,^{1,2} Vinayak Shankar,^{1,2} Hope Harlow,^{1,2} Seoyong Hong,^{1,2} Benjamin Zirkle,^{1,2} Muhan Wang,^{1,2} Ningren Cui,^{1,2} Purba Mandal,^{1,2} Xiaoling Chen,^{1,2} Brody Deming,^{1,2} Manasi Halurkar,^{1,2} Yuanrui Zhao,^{1,2} Jean-Christophe Rochet,^{1,2} Ranjie Xu,⁴ Amy L. Brewster,⁵  Long-jun Wu,⁶ Chongli Yuan,³ William C. Skarnes,⁷ and  Yang Yang^{1,2}

Plan

Contexte

Méthode

Résultats

Discussion

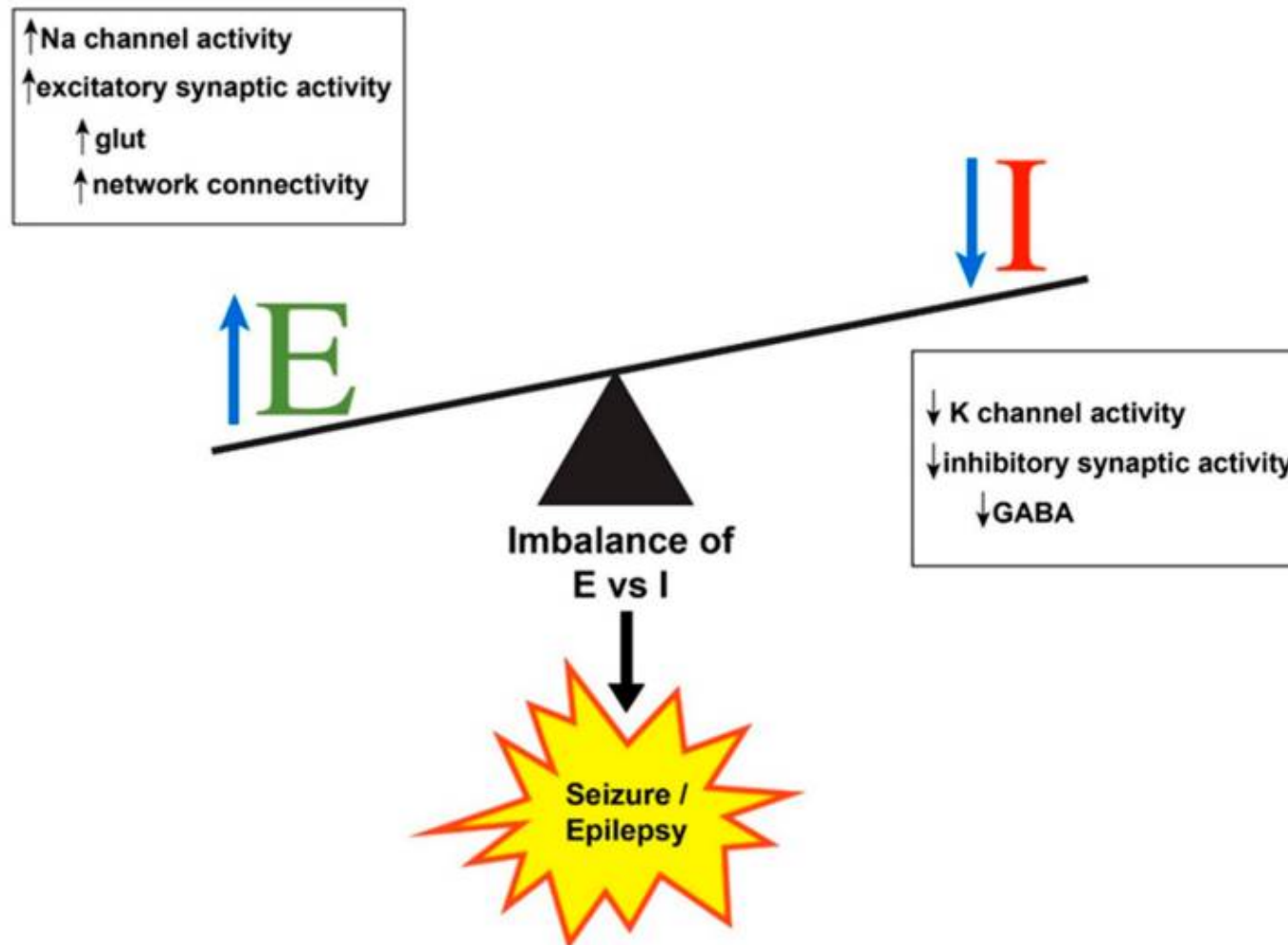
Conclusion



Contexte

Qu'est-ce que l'épilepsie ?

Standard Paradigm: ion channels & synapses



Pourquoi s'intéresser à l'épilepsie ?

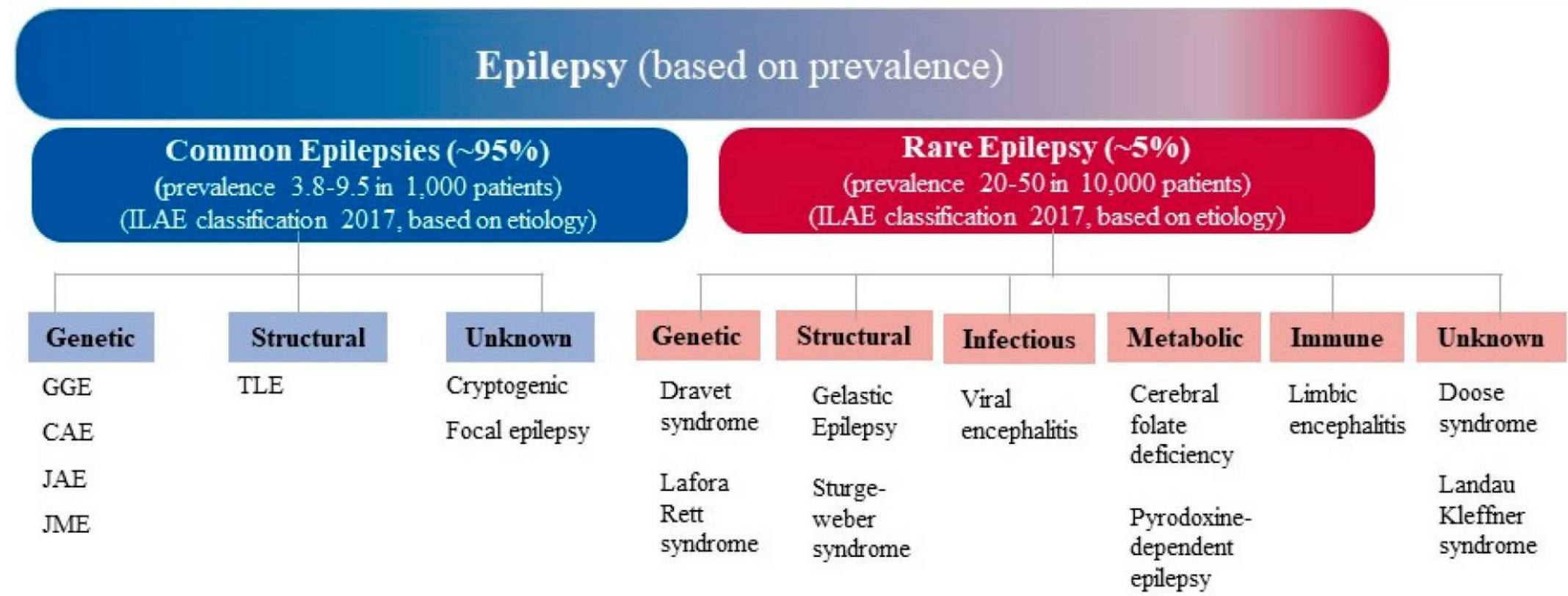
50 millions personnes touchées

Associée à de multiples comorbidités

- dépression, anxiété, troubles cognitifs et une mortalité accrue

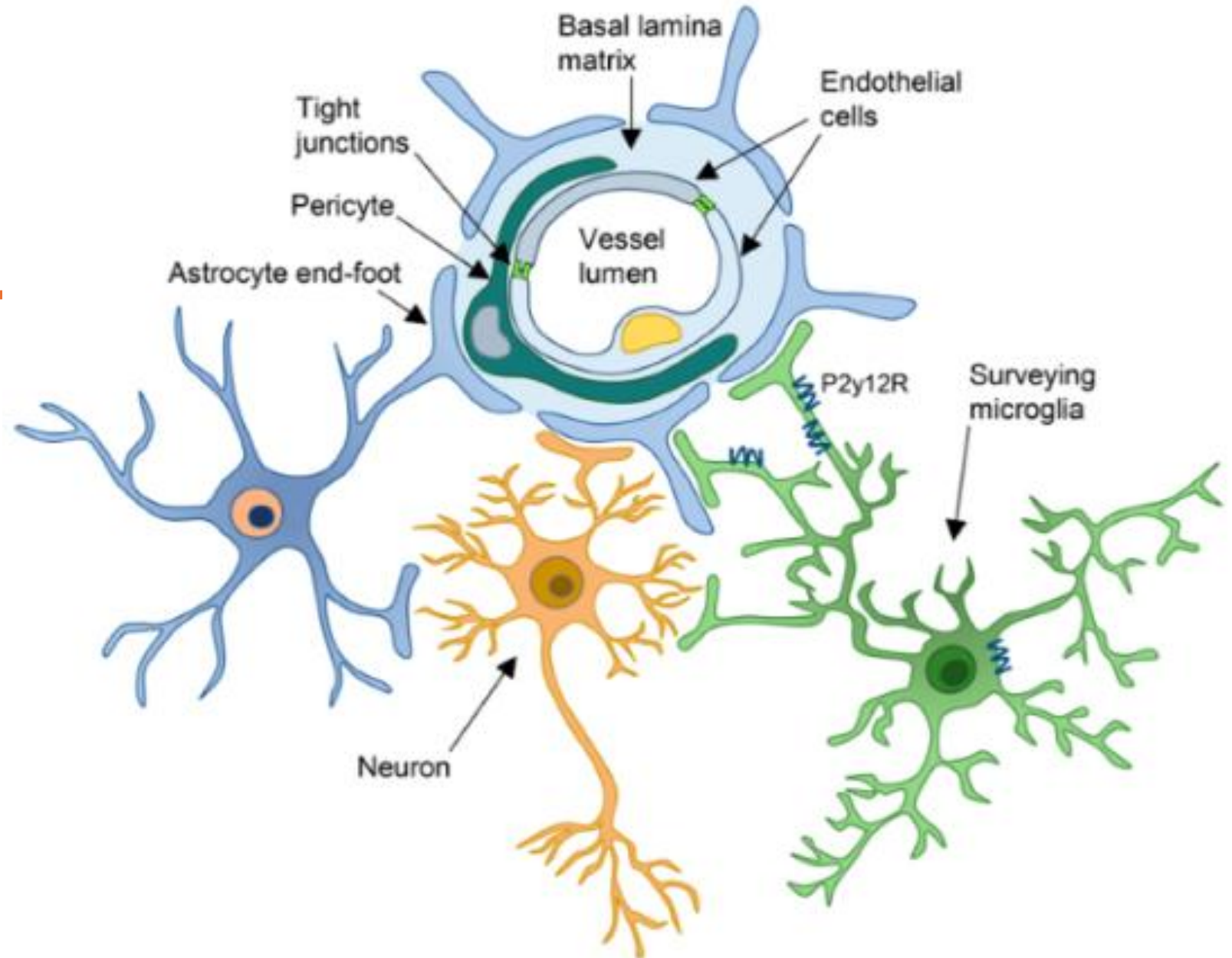
30% des epilepsies sont pharmacorésistantes

Quels sont les causes ?



Role de la microglie

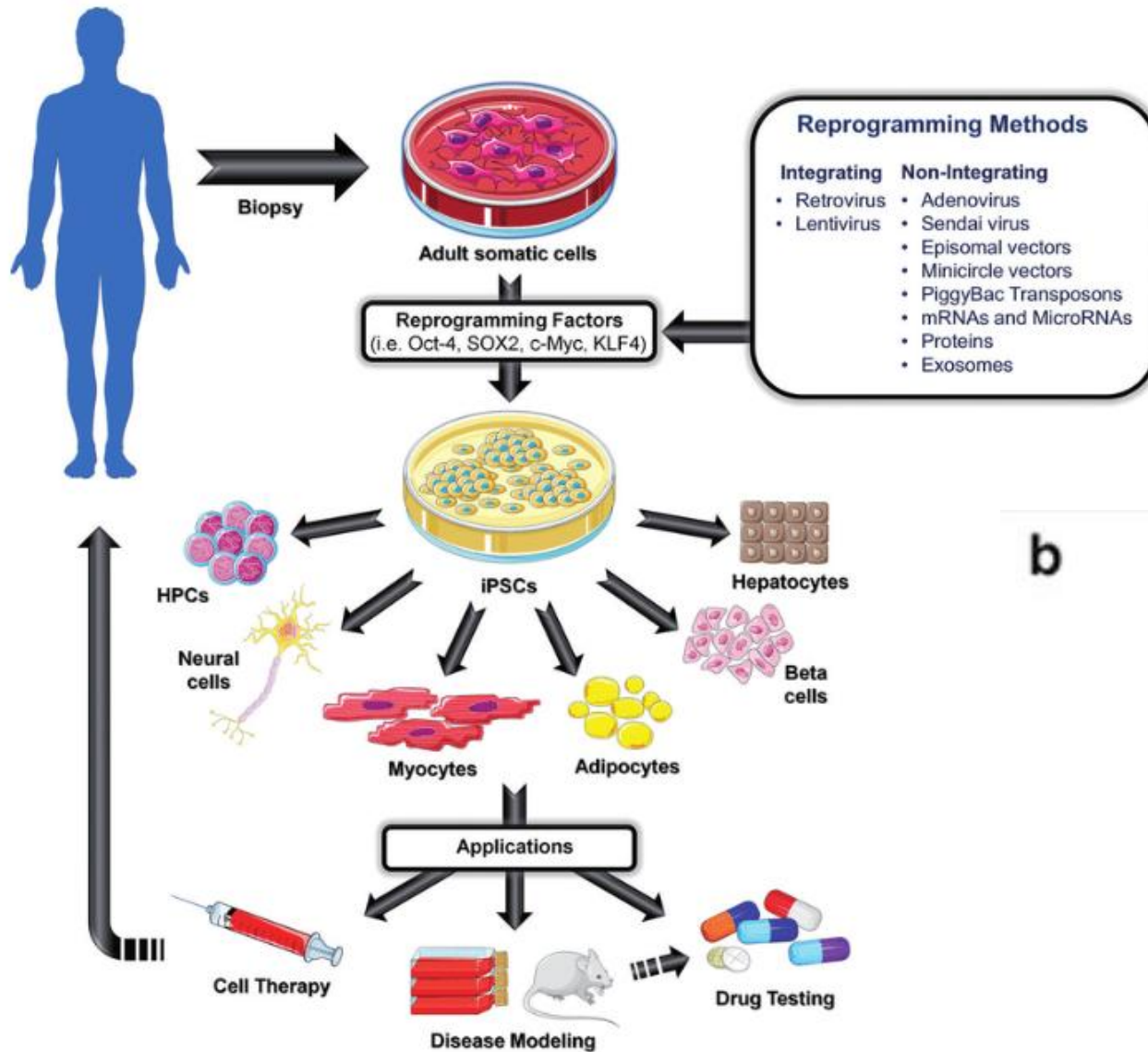
- Cellule immunitaire du SNC :
 - Surveillance
 - Phagocytose
 - Sécrétion des molécules pro-inflammatoires
- Élagage synaptique !!!



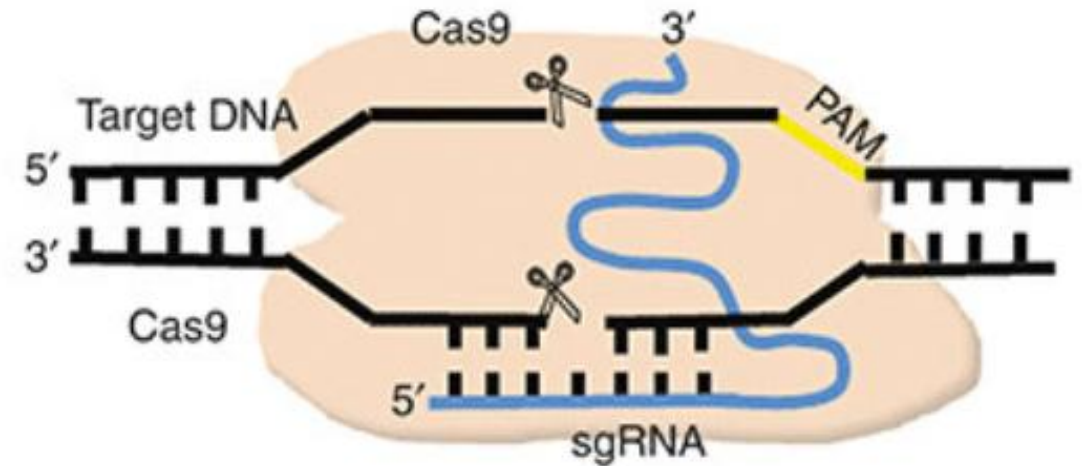
Objectif

- La microglie humaine peut-elle détecter et moduler l'hyperexcitabilité de neurones porteurs de la mutation SCN2A-L1342P

Méthode

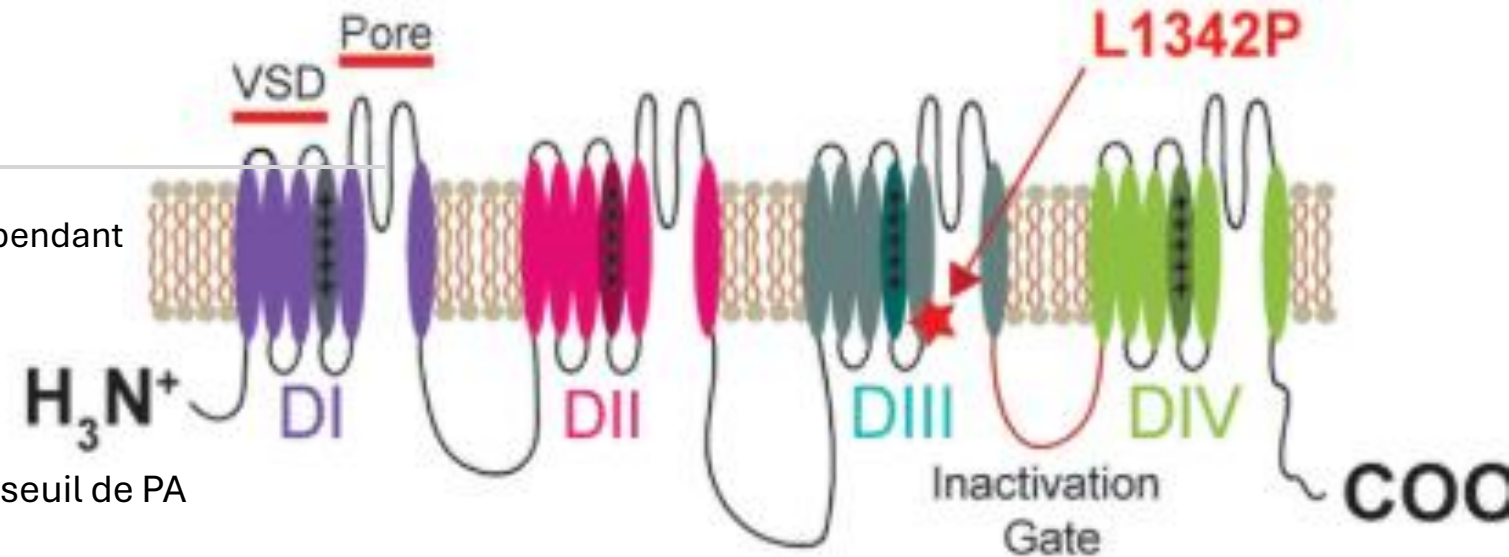


b



Gène SCN2A

2D Schematic



- Code pour la sous-unité alpha d'un canal sodique voltage dépendant
- Mutation dans Segment S5, domaine III
- densité de courant sodium plus élevée + abaissement du seuil de PA

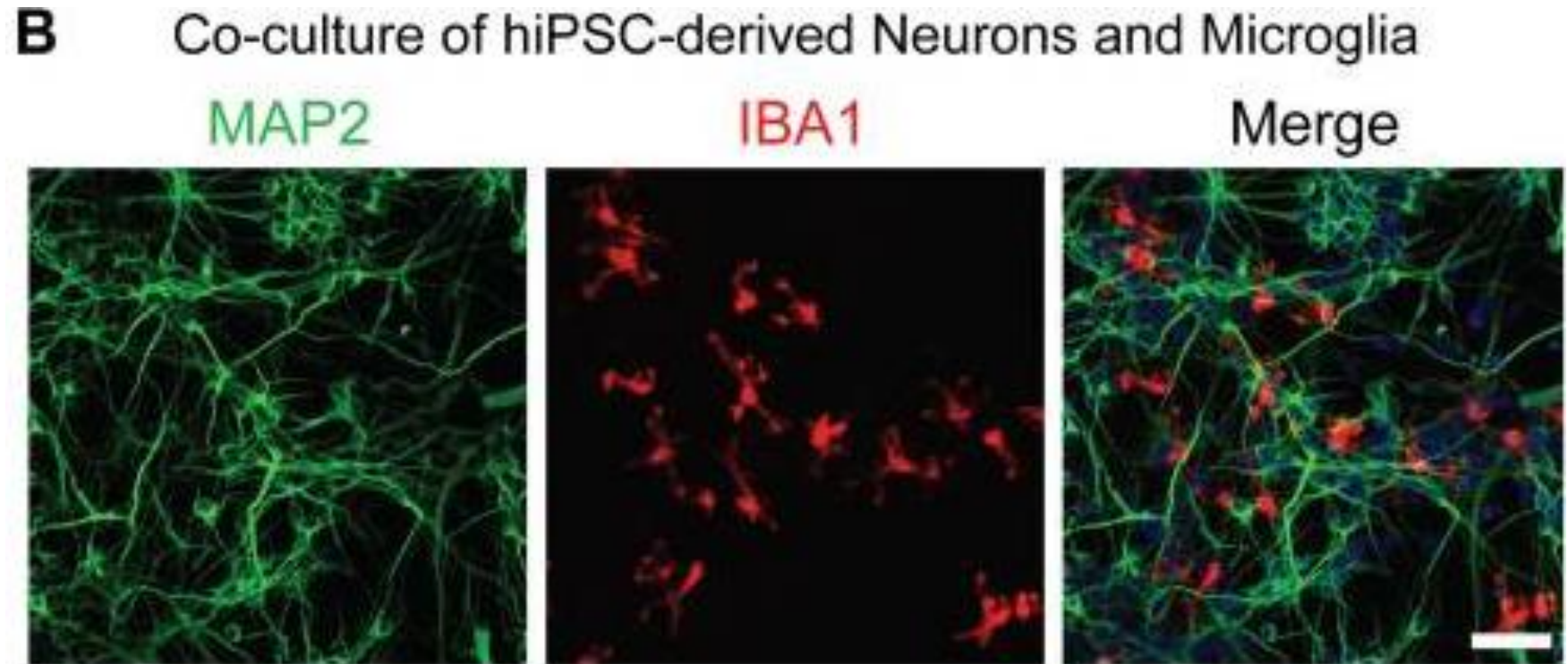
Résultats

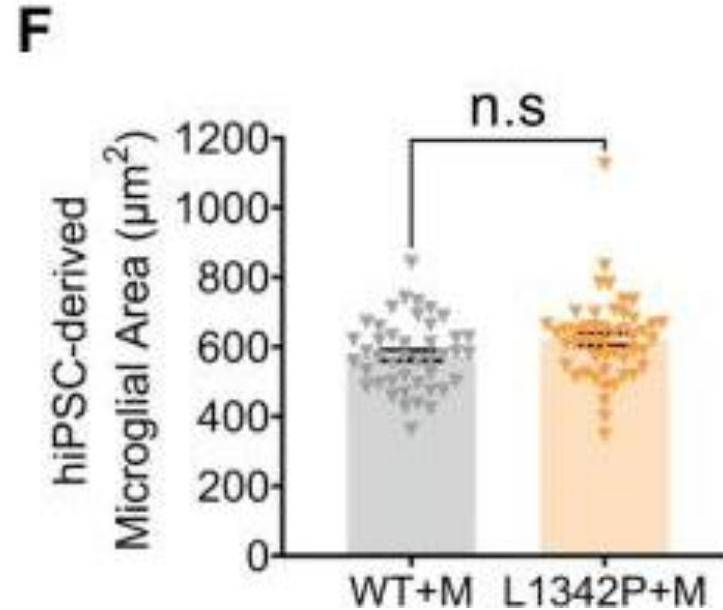
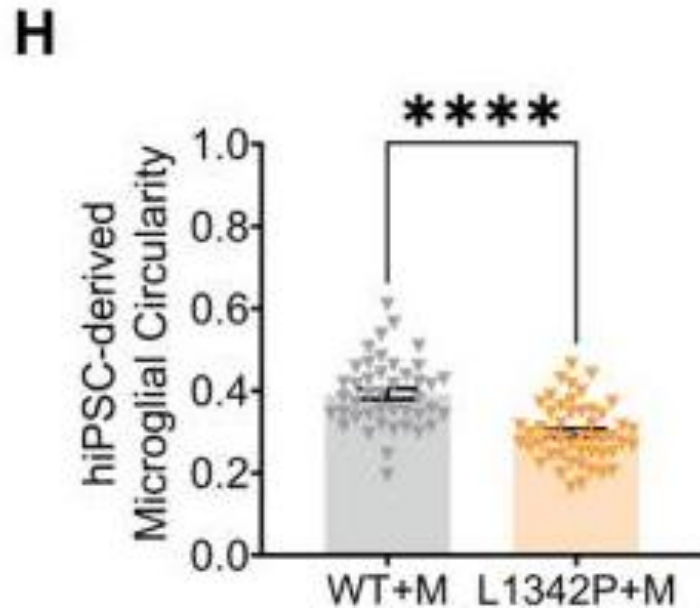
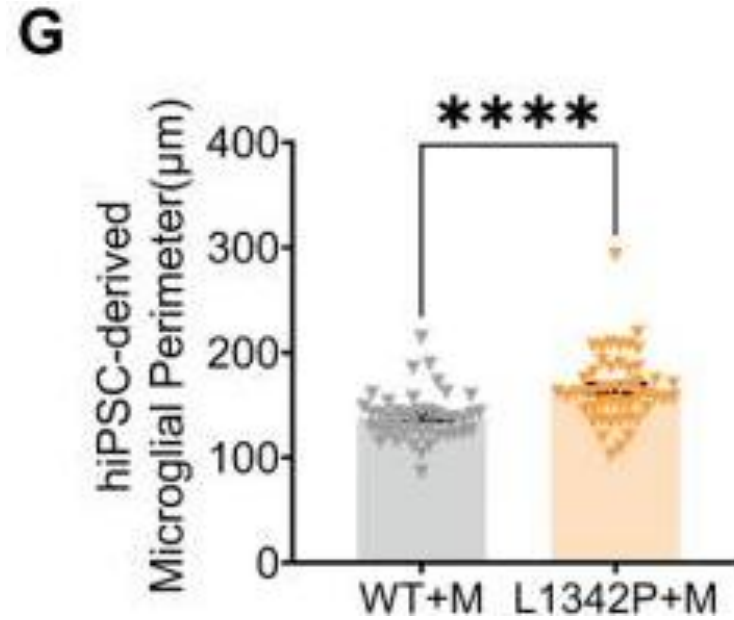
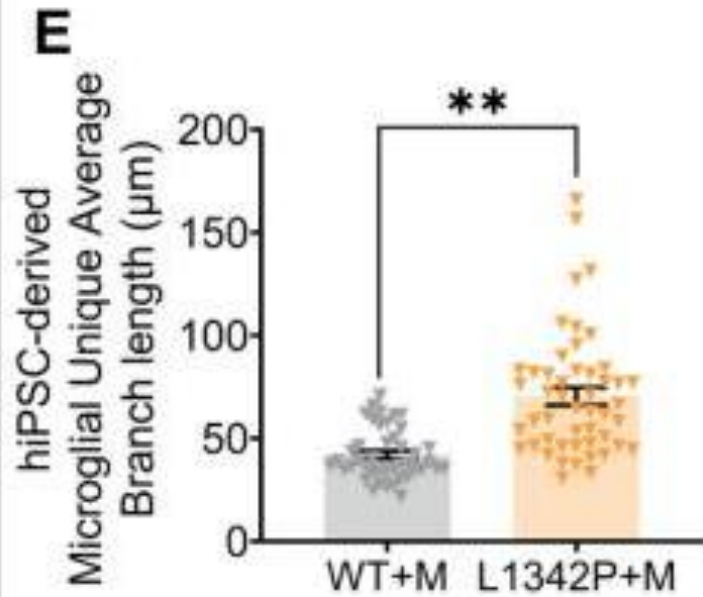
La microglie modifie-t-elle sa morphologie en présence de neurones hyperexcitables ?

Approche

1. Validation

2. Interaction





Résultat 1 : La microglie se comporte différemment en présence de neurones mutés

Ces changements morphologiques
s'accompagnent-ils également d'un changement
d'activité ?

Approche

- Insertion du gène GCaMP6f via CRISPR Cas9
- GcaMP6f = Détecteur calcique fluorescent

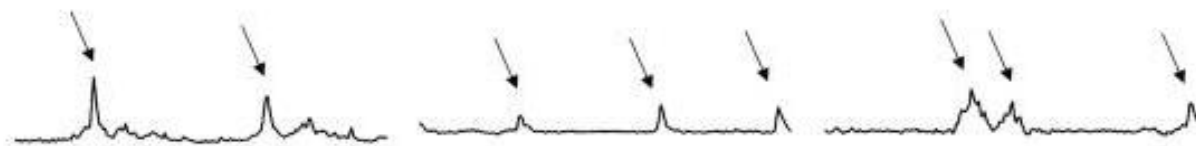
B

Representative Traces of Global Microglial Calcium Events

Cell 1

Cell 2

Cell 3



GCaMP6f Microglia + WT neurons

Cell 1

Cell 2

Cell 3



GCaMP6f Microglia + L1342P neurons

10% $\Delta F/F$

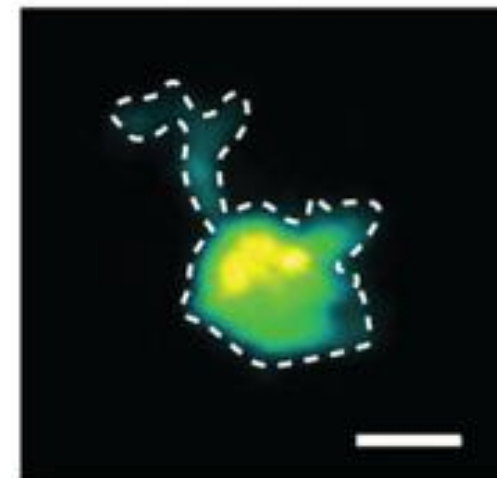
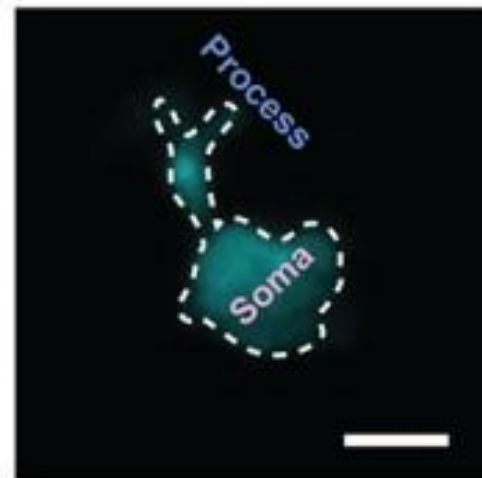
A

Low Ca^{2+}

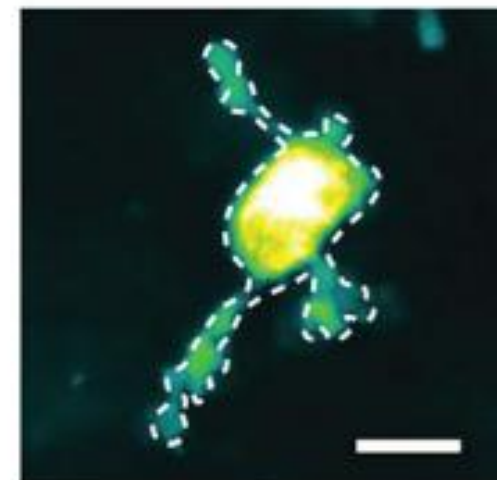
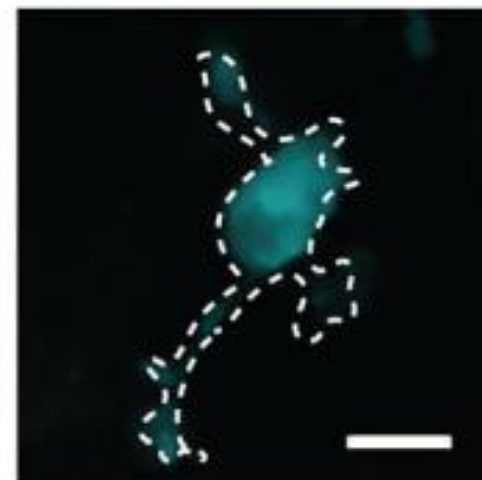
High Ca^{2+}



GCaMP6f Microglia + WT neurons



GCaMP6f Microglia + L1342P neurons

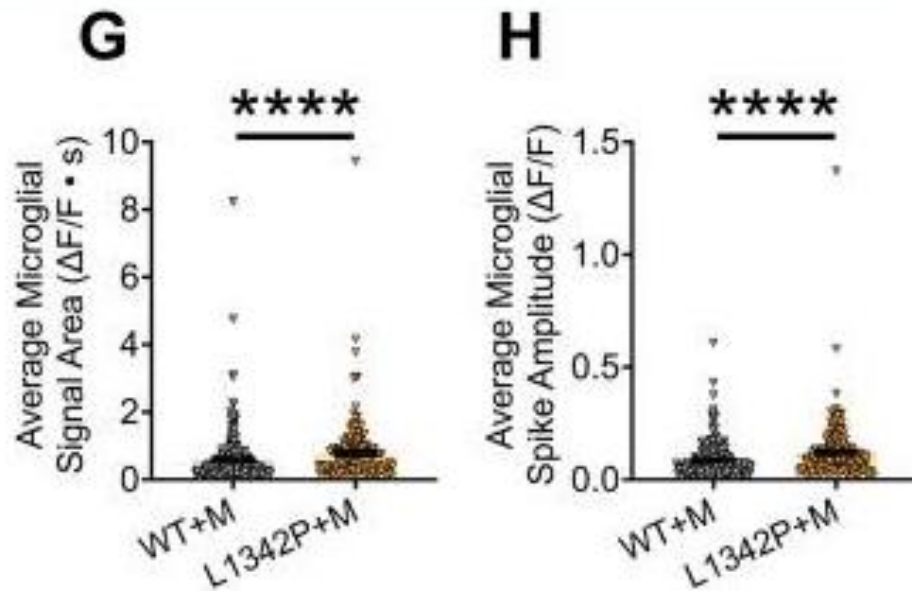


Baseline

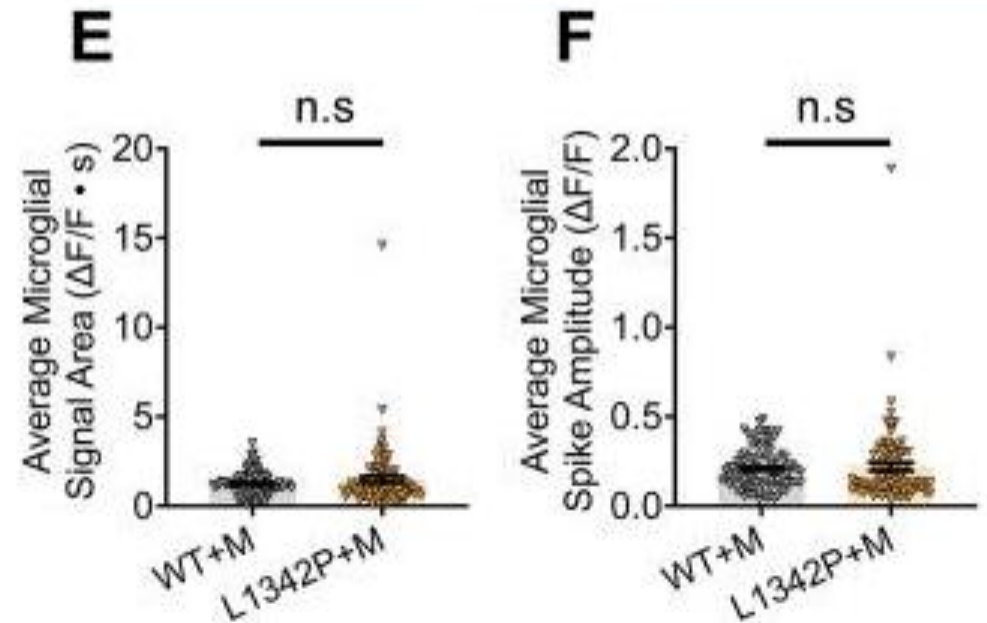
Peak

Résultat 2 : La microglie augmente son activité calcique au contact de neurones hyperexcitables

Processes



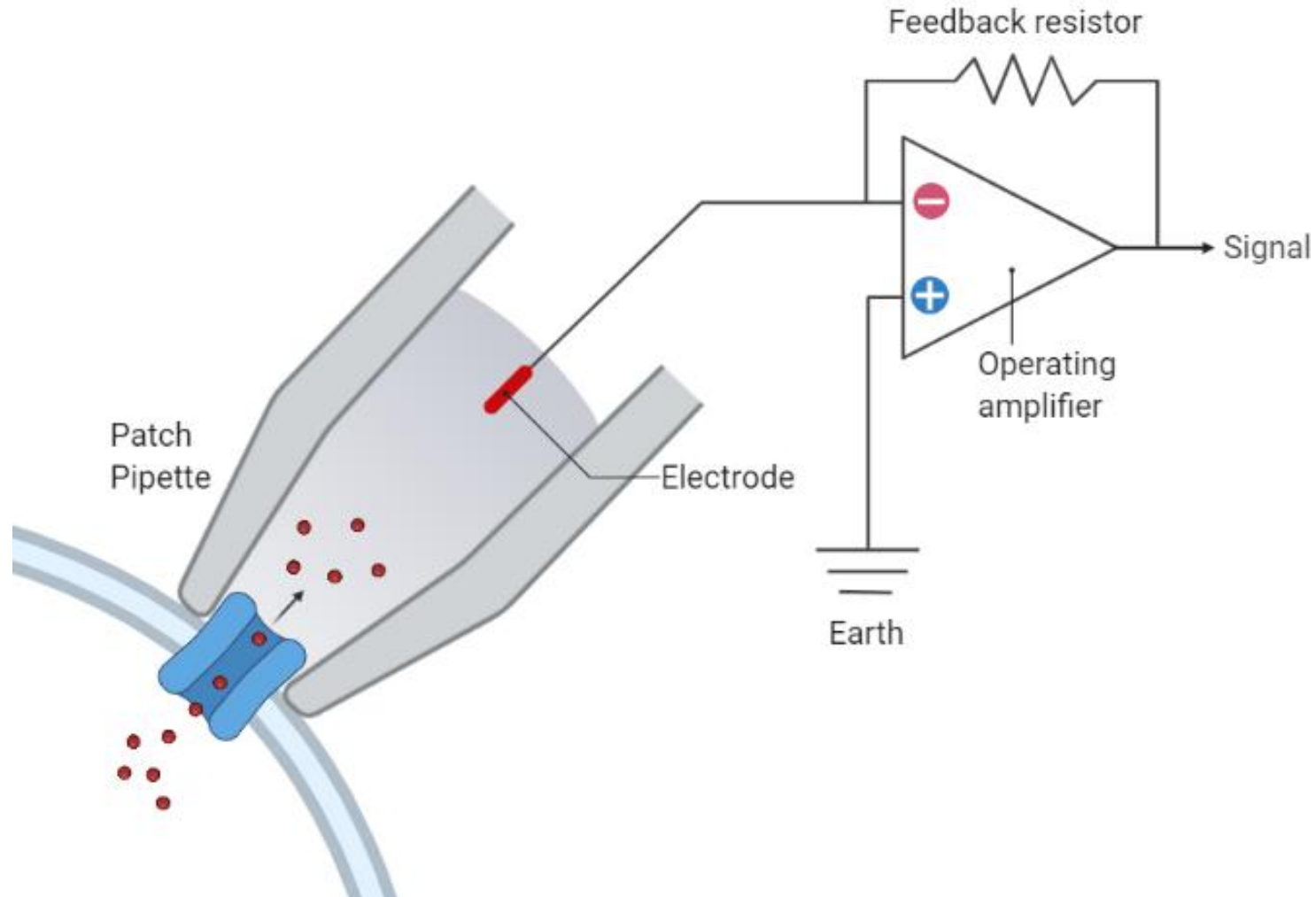
Soma



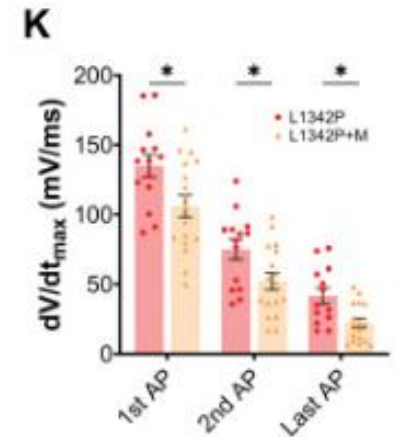
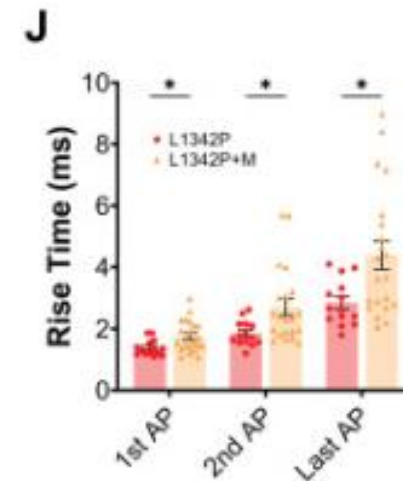
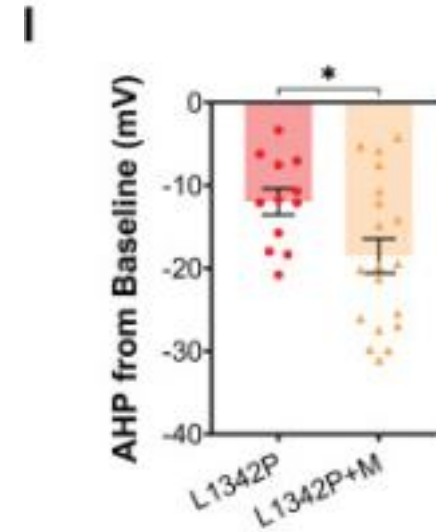
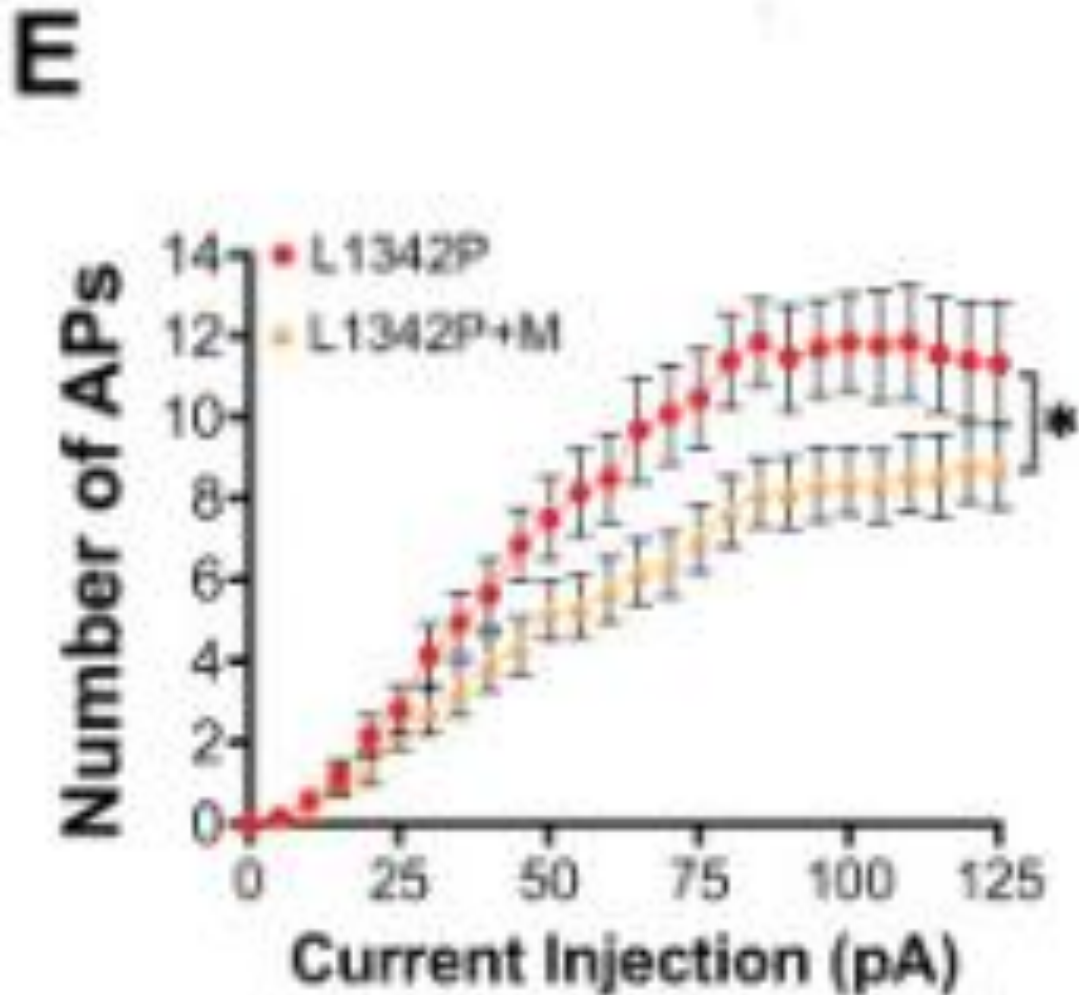
On sait que la microglie humaine interagit avec les neurones hyperexcités

Est-ce que la microglie régule l'excitabilité de ces neurones ?

Mesure la fréquence des PA en fonction de l'intensité du courant injecté

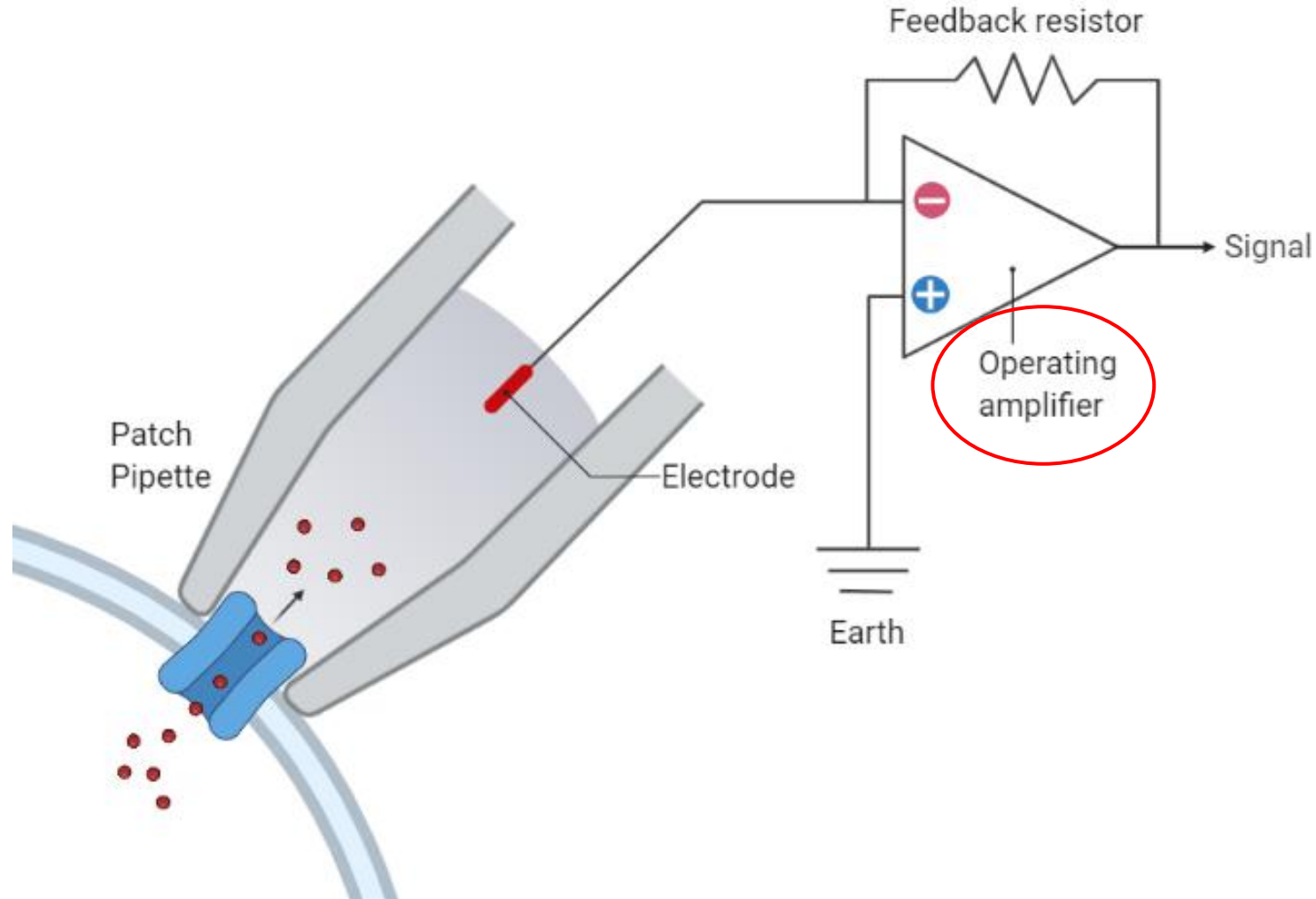


Résultat 3 : Les neurones montrent une réduction de la fréquence des potentiels d'action

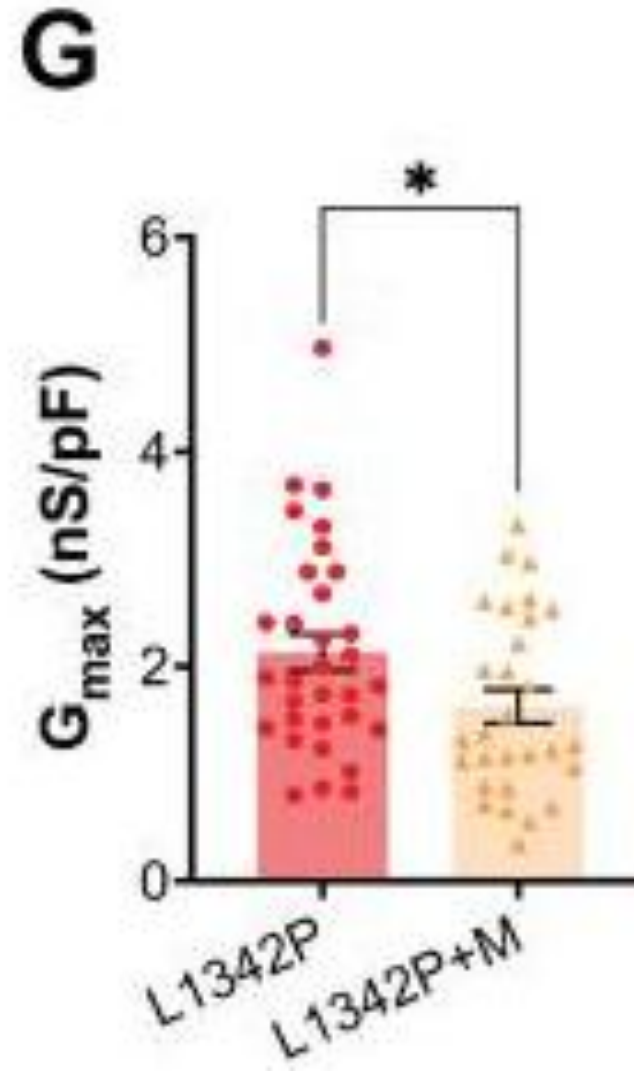
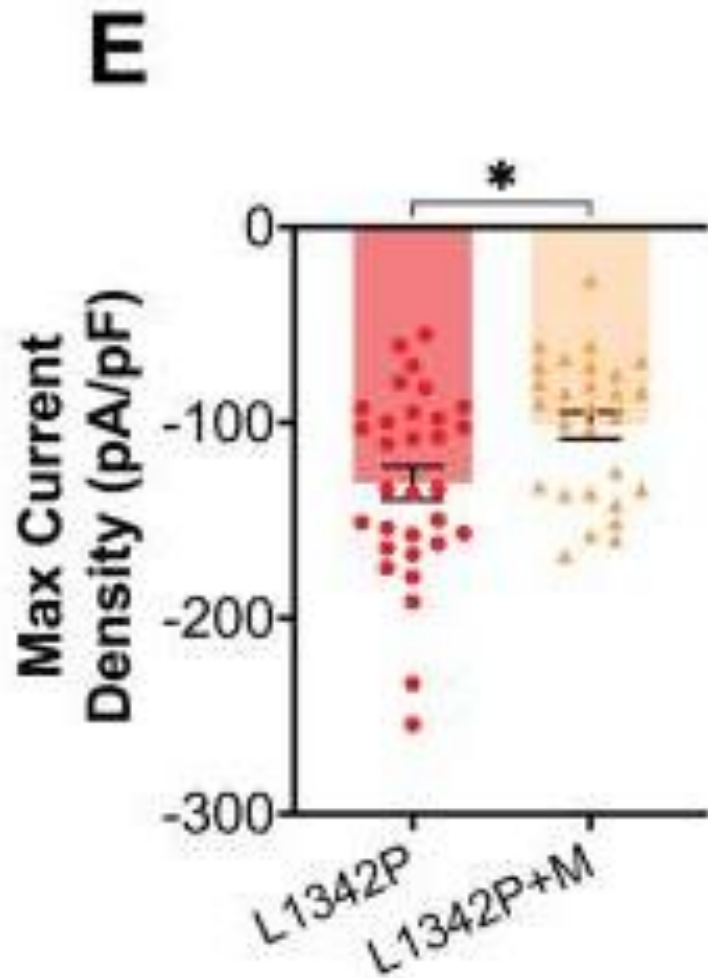


Qu'est-ce qui peut causer cette reduction de
PA ?

Mesure de la densité du courant sodique

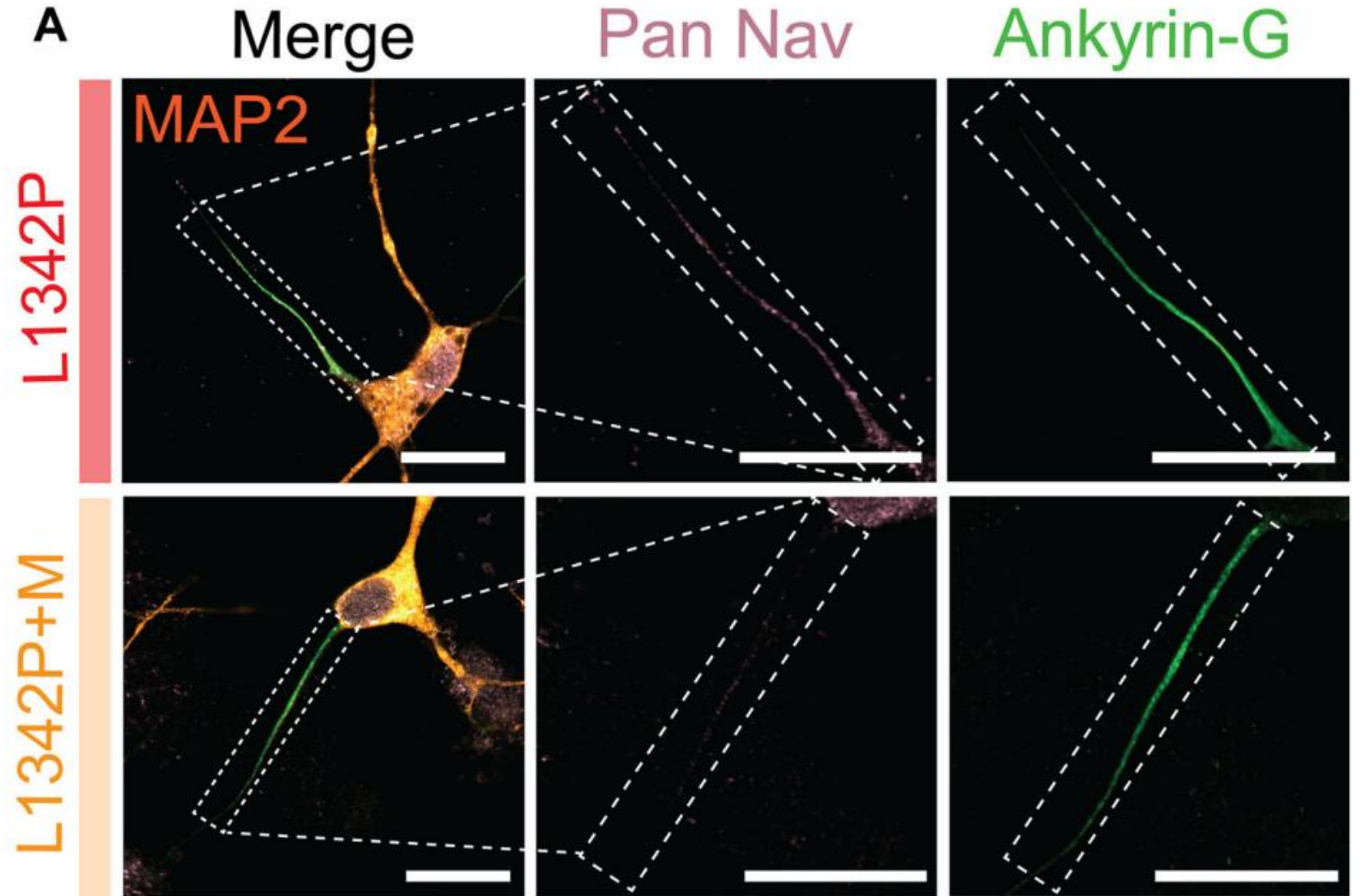
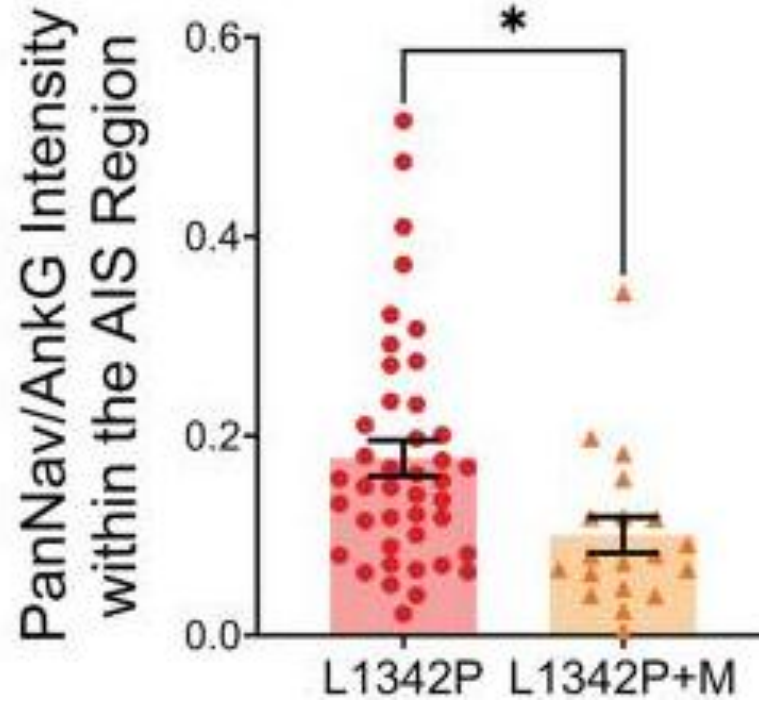


Résultat 4 : La microglie diminue le courant sodique qui entre dans les neurones



Est-ce que ces changements se trouvent sur le segment initial de l'axone ?

Résultat 5 : Diminution de canaux sodiques dans l'AIS



Résumé

La microglie interagit avec des neurones hyperexcitables et régule leur activité en diminuant l'expression des canaux sodiques au niveau de l' AIS

Discussion

Limites

Quels sont les effets à long termes?

Toutes les fonctions de la microglie n'ont pas été prises en compte

Échantillon faible

Perspectives

Quel rôle jouent les astrocytes dans cette modulation ?

Résultats similaires avec d'autres mutations épileptiques ?

Peut-on cibler la microglie pour traiter l'épilepsie ?

Conclusion