

THP-1 como modelo para el estudio del papel de TREM2 en células de microglía humana



Miranda E.^{†,1,2}, Gil A.I.^{†,1,3}, Moreno-Jiménez B.^{1,4}, Velasco P.¹, Fernández A.¹, Cano E.¹ – ¹Unidad Funcional de Investigación de Enfermedades Crónicas (ISCIII), ²Universidad Autónoma de Madrid, ³Universidad Complutense de Madrid, ⁴Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED).

[†]Miranda E. y Gil A.I. han contribuido de igual manera en este trabajo.

INTRODUCCIÓN

La **señalización de TREM2** (Fig. 1) parece estar involucrada en el desarrollo de la **enfermedad de Alzheimer**[1].

Poco se sabe de la **microglía humana** en el desarrollo de esta enfermedad, que se ha estudiado principalmente en modelos animales. El estudio de la microglía humana es bastante complicado ya que las posibilidades (líneas establecidas, iPSCs, cerebroides o tejido post-mortem) presentan diversos inconvenientes[2].

En este póster se muestra el desarrollo de un modelo celular preliminar para establecer protocolos y herramientas de estudio que serán utilizados posteriormente en células de microglía humana derivadas de iPSCs y poder estudiar en estas el rol de TREM2.

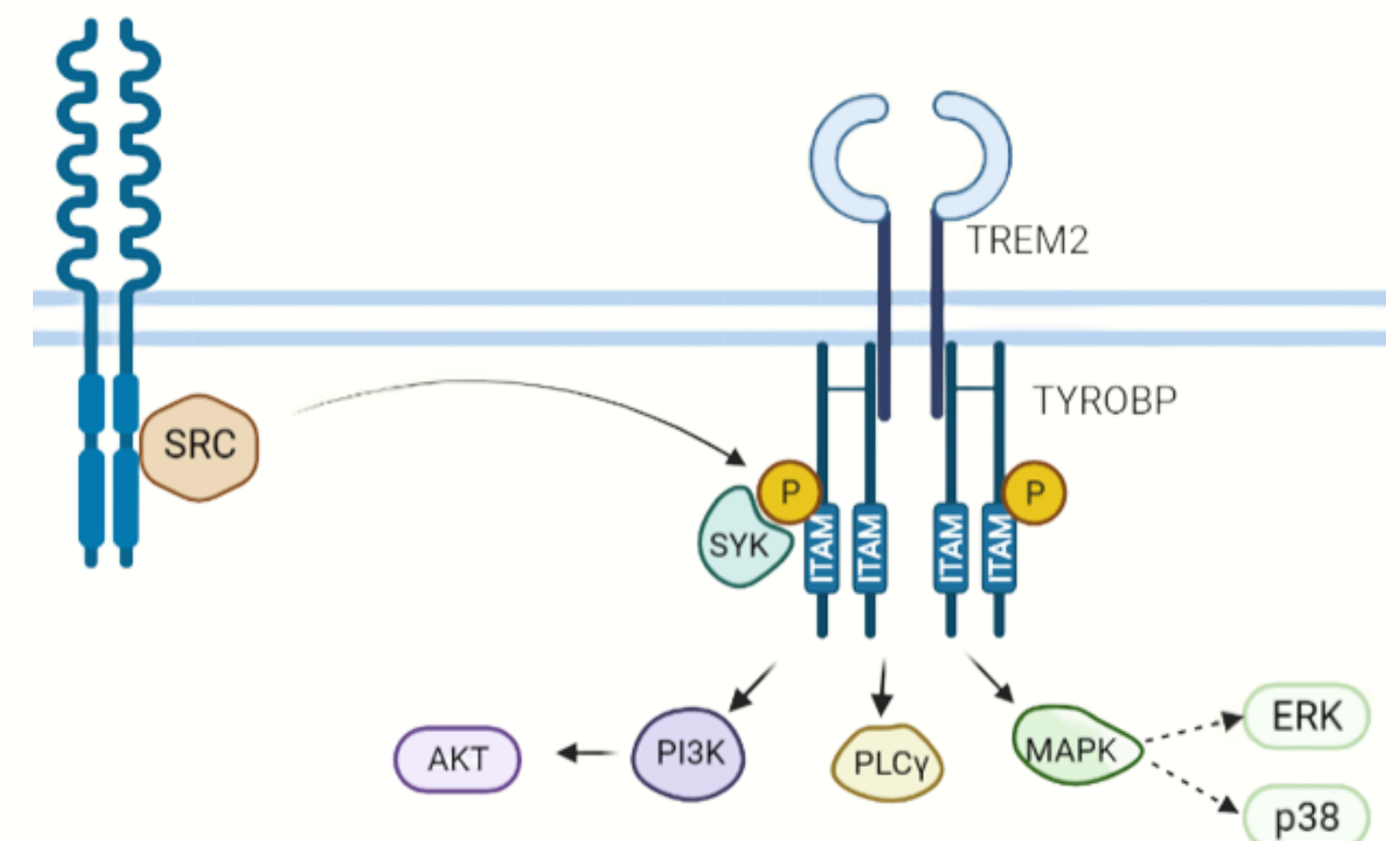
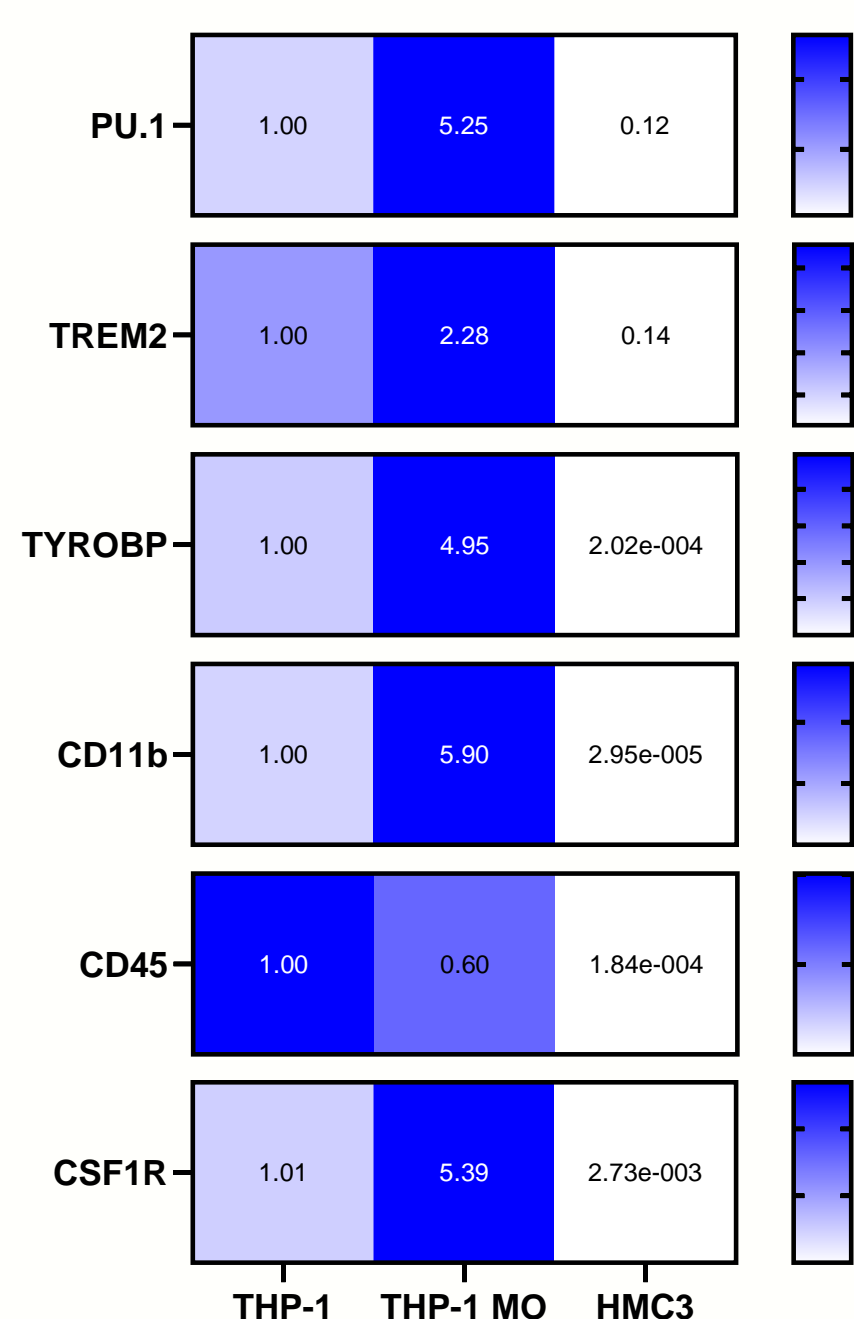


Fig. 1. Esquema de la señalización de TREM2.
Adaptada de Konishi H. y Kiyama H., 2018.

RESULTADOS



Expresión de marcadores de microglía

A menudo se utiliza HMC3 como línea celular para el estudio de la microglía humana, sin embargo se ha observado que estas células no expresan los marcadores propios de microglía. Por el contrario, la línea THP-1 sí que presenta estos marcadores tanto en monocitos, como diferenciados a macrófagos (MO) (Fig.2). También expresan la proteína de estudio, TREM2 y su proteína asociada (TYROBP) (Fig. 3).

Fig. 2. Expresión de distintos marcadores de microglía en las líneas celulares HMC3 y THP-1 en estado de monocitos y macrófagos (MO), cuantificado respecto a la expresión de THP-1 monocitos y obtenida por qPCR.

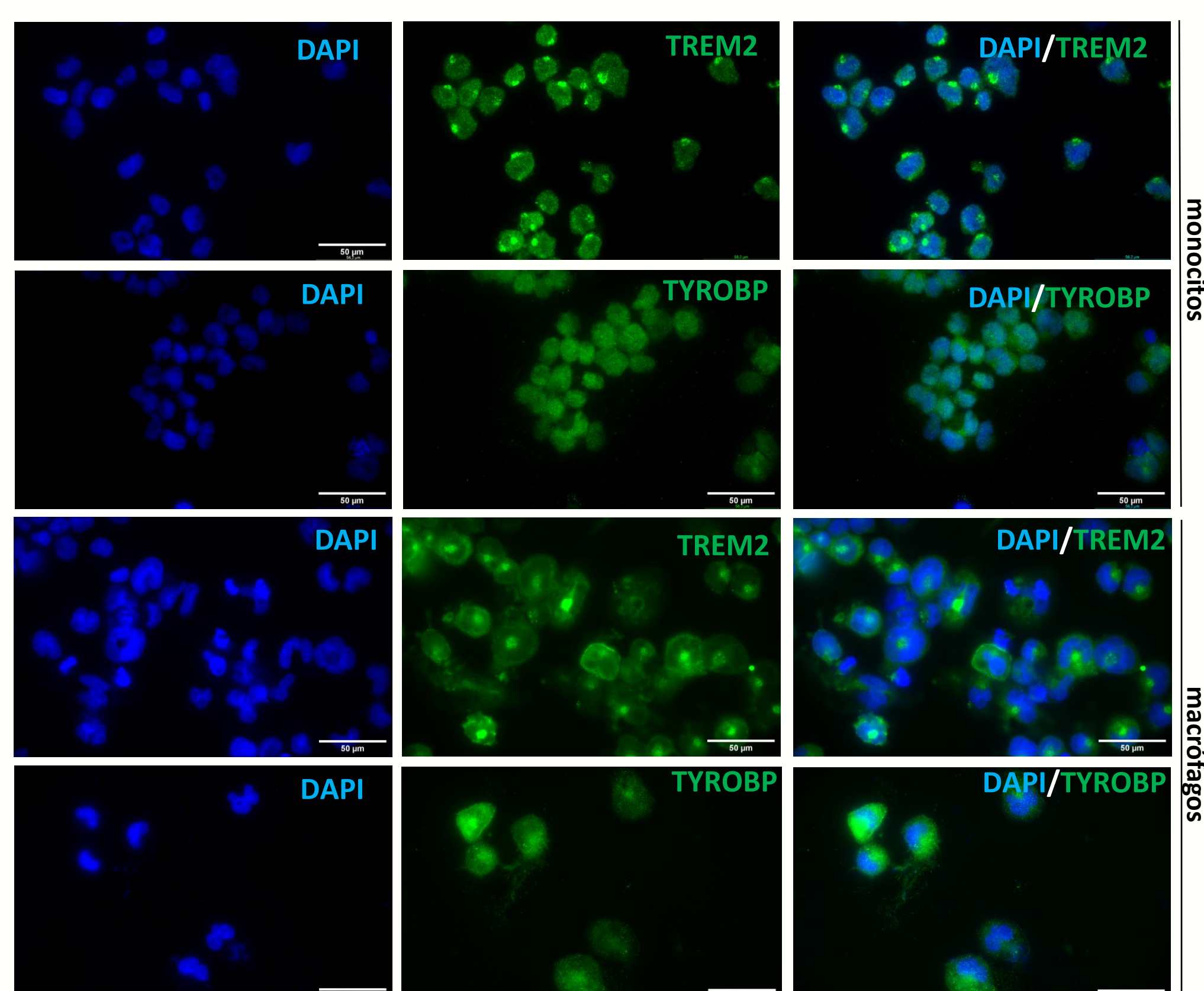


Fig. 3. Presencia de TREM2 y TYROBP en THP-1 monocitos y macrófagos visualizado por inmunofluorescencia.

Expresión de las proteínas involucradas en la ruta de TREM2

Se ha observado la expresión de las proteínas de membrana involucradas en la ruta (Fig. 4).

También se ha estudiado la activación de la vía CSF1R mediante la estimulación con sus ligandos IL34 y CSF1, viendo así que la ruta necesaria para tener señalización de TREM2 se activa en las THP-1 (Fig.5).

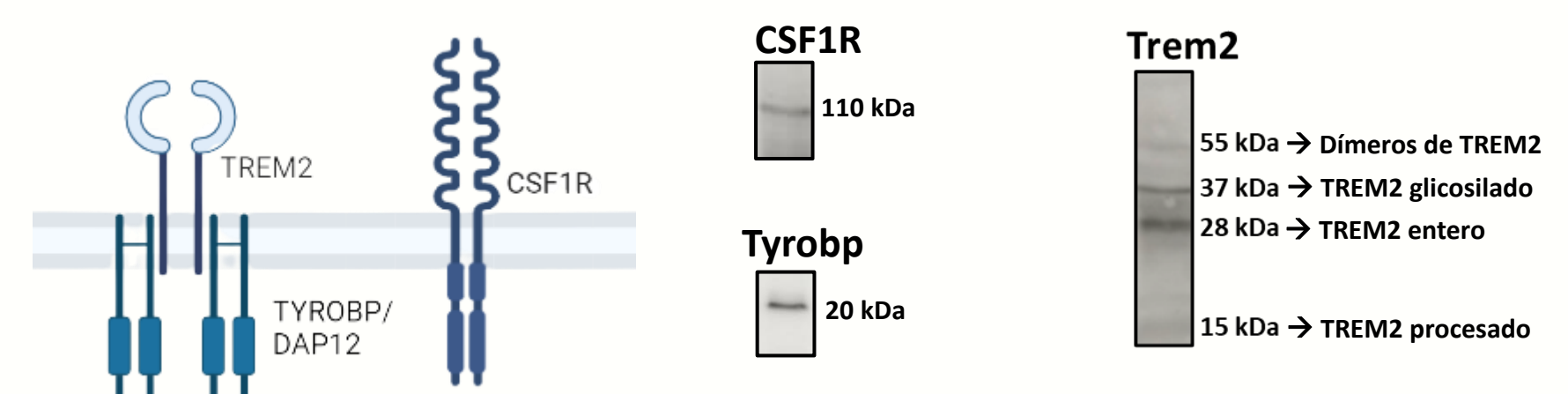


Fig. 4. Presencia de los receptores y proteínas adaptadoras principales que intervienen en la ruta de señalización de TREM2 por Western blot.

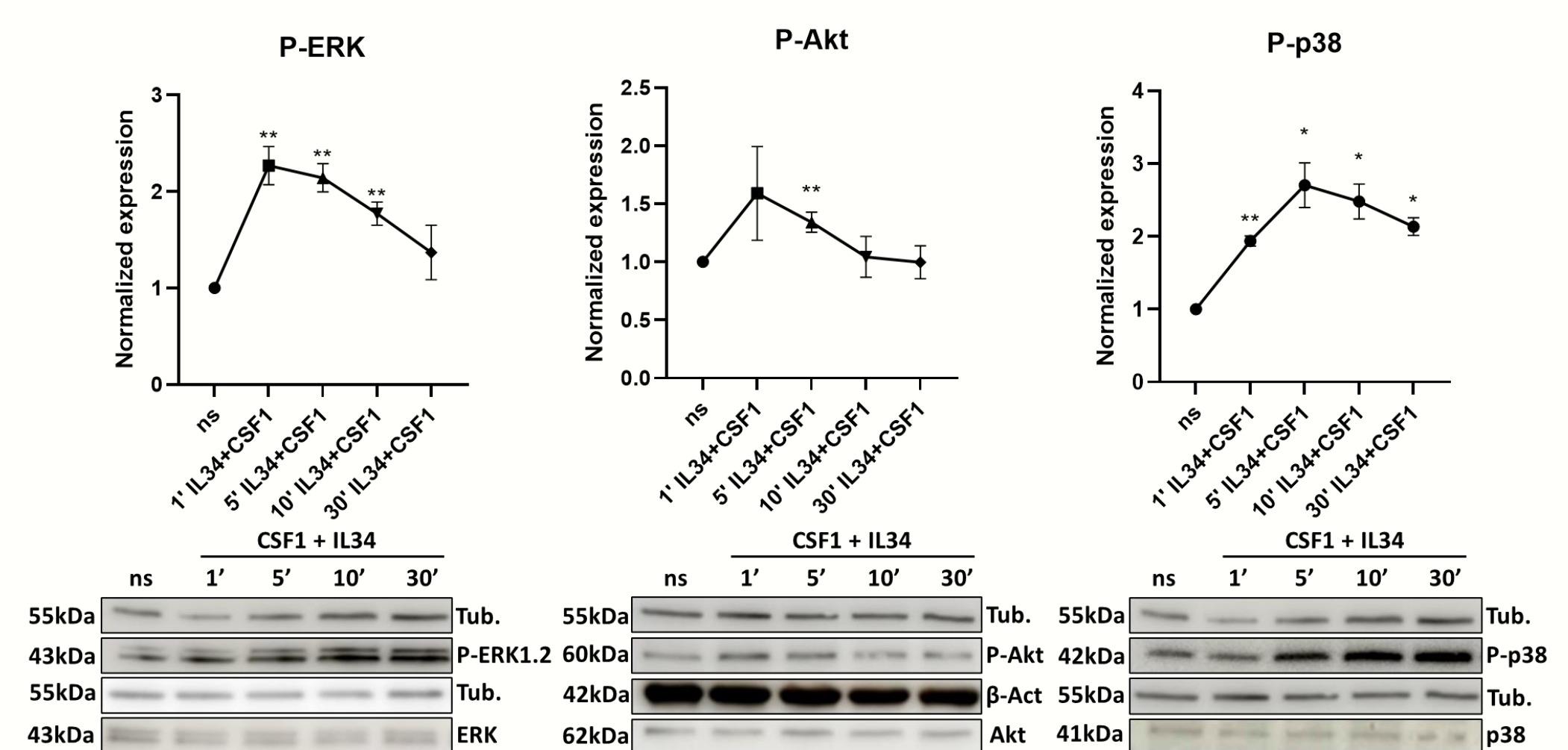


Fig. 5. Expresión de las proteínas que intervienen en la ruta estudiada por Western blot, y su cinética de fosforilación.

CONCLUSIONES

La línea celular humana THP-1 presenta marcadores génicos similares a la microglía humana indicando que puede ser un buen modelo celular para validar las herramientas moleculares que se aplicarían posteriormente en la microglía.

Las THP-1 expresan las diferentes proteínas necesarias para poder estudiar la vía TREM2.

[1] Nguyen, A. T., Wang, K., Hu, G., Wang, X., Miao, Z., Azevedo, J. A., Suh, E., Van Deerlin, V. M., Choi, D., Roeder, K., Li, M., & Lee, E. B. (2020). APOE and TREM2 regulate amyloid-responsive microglia in Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica*, 140(4), 477–493. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02200-3>

[2] Guttenplan, K. A., & Liddel, S. A. (2019). Astrocytes and microglia: Models and tools. *The Journal of experimental medicine*, 216(1), 71–83. <https://doi.org/10.1084/jem.20180200>