



Humane Zellen und Gewebe in präklinischen Studien: induzierte pluripotente Stammzellen (iPSC)

Sulayman D. Dib-Hajj^{1,2}, David L. Bennett³, Angelika Lampert⁴, Nurcan Üçeyler⁵

¹Department of Neurology and ²Center for Neuroscience and Regeneration Research, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut 06510; and ³Rehabilitation Research Center, Veterans Administration Connecticut Healthcare System, West Haven, Connecticut 06516

³Nuffield Department of Clinical Neuroscience, University of Oxford, Oxford, UK

⁴Institute of Physiology, Uniklinik RWTH Aachen University, Pauwelsstrasse 30, 52074 Aachen, Germany

⁵Department of Neurology, University of Würzburg, Würzburg, Germany

Korrespondenzadresse:

Sulayman D. Dib-Hajj, PhD

The Center for Neuroscience and Regeneration Research
127A, Bldg. 34
VA Connecticut Healthcare System
950 Campbell Ave.
West Haven, CT 06516
Tel: (203) 937 3802
Fax: (203) 937 3801
E-mail: sulayman.dib-hajj@yale.edu



Schmerz ist eine sinnvolle Anpassungsreaktion, weil er uns vor drohendem Schaden warnt, chronischer Schmerz aber ist maladaptiv und stellt nach wie vor eine globale Herausforderung dar. Nozizeptoren sind sensorische Neurone, die auf die Erkennung noxischer Reize spezialisiert sind (Reize, die Gewebeverletzungen verursachen können). Normalerweise haben sie eine hohe Erregungsschwelle, aber Nervenverletzungen, Gewebeentzündungen oder genetische Erkrankungen bewirken eine Sensibilisierung dieser Nozizeptoren, die zu chronischen Schmerzen führen kann. Das Verständnis der molekularen Grundlagen der Erregbarkeit dieser Neurone und ihrer Reaktion auf Krankheiten oder Verletzungen ist entscheidend für die Entwicklung neuer und wirksamerer Medikamente zur Schmerzbehandlung. Ebenso wichtig ist die präklinische Erprobung von Therapeutika an den entsprechenden Targets in humanen Neuronen, da es speziesspezifische Unterschiede in den Eigenschaften dieser Targets geben kann.

Aktuelle experimentelle Ansätze zur Untersuchung von Schmerzen

Die erfolgreiche Entwicklung neuartiger Schmerztherapien wird durch mehrere Faktoren behindert, die angegangen werden müssen, um die Lücke zwischen präklinisch gewonnenen Erkenntnissen und ihrer Umsetzung in der Klinik zu schließen. Tierversuche sind von unschätzbarem Wert für die Aufklärung der Rolle spezifischer Moleküle und Signalwege bei der Weiterleitung und Übertragung noxischer Reize und für präklinische pharmakologische *in vivo*-Studien [27], aber die Paradigmen für die Überprüfung von Schmerz stellen ein Hindernis für die erfolgreiche Entwicklung eines klinisch einsetzbaren Medikaments dar [36]. Inzwischen wurden neuartige Paradigmen für die Überprüfung des Schmerzverhaltens bei Tieren entwickelt, die für den Menschen relevantere Ergebnisse erzielen [31; 40]. Ein weiteres Hindernis sind die speziesspezifischen Unterschiede auf molekularer und funktioneller Ebene bei verschiedenen Zielstrukturen, wenn es zum Einsatz von Prüfmedikamenten kommt [5; 11-13; 16; 29; 33; 41]. Daher ist die Erprobung von neuen Medikamenten in humanen Zellmodellen eine "Brücke" zur Translation [28].

Sensorische Neurone aus induzierten pluripotenten Stammzellen



Die Verwendung humaner Zellen, einschließlich Spinalganglien-Neurone, in präklinischen Studien mit Prüfmedikamenten hat den Vorteil, dass die Anbindung an die Zielstrukturen und die Wirksamkeit von Medikamenten im nativen zellulären Hintergrund bewertet werden kann. Obwohl das Interesse an der Verwendung humaner Spinalganglien-Neurone in zellbasierten Experimenten wächst, ist es nach wie vor schwierig, native Spinalganglien-Neurone in großem Maßstab für den breiten Einsatz in präklinischen Studien zu erhalten [28], und da es sich um post-mitotische Zellen handelt, lassen sie sich nicht in großem Maßstab genomisch verändern oder erweitern. Die Entwicklung eines Ansatzes zur Differenzierung sensorischer Neurone aus iPSC (iPSC-SN) [2] hat eine Plattform für das Verständnis der Pathophysiologie von Krankheiten, einschließlich der Mechanismen der neuronalen Schädigung und Übererregbarkeit, für die Entwicklung zellbasierter Experimente zum Screening und zur Validierung neuartiger Arzneimittel vor der Durchführung kostspieliger klinischer Studien sowie für die Identifizierung und Validierung von Biomarkern oder für die iPSC-SN als Biomarker für Krankheiten *per se* geschaffen [22; 32].

Induzierte pluripotente Stammzellen zur Untersuchung von Krankheitsmechanismen

Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSC) behalten den genetischen Hintergrund und die nativen Transkriptionsmechanismen von Individuen bei [14; 30; 39] und ermöglichen so mechanistische Studien von Krankheiten, die nicht den potenziellen Artefakten unterliegen, die bei Systemen mit Überexpressionsmustern oder transgenen Tierstudien auftreten können. Patientenspezifische iPSC-SN bieten ein "Erkrankung-in-der-Petrischale"-Modell des Schmerzes. Die besten Beispiele hierfür stammen aus Studien über Nav1.7-bezogene Schmerzstörungen wie vererbte Erythromelalgie (IEM) und angeborene Schmerzunempfindlichkeit (CIP) [1; 19; 21; 23; 38]. Einige Studien haben gezeigt, dass patientenspezifische iPSC-SN, die funktionssteigernde Mutationen in Nav1.7 tragen, erregbarer sind als die von Kontrollpersonen [1; 21; 23], was damit übereinstimmt, dass die Träger dieser Mutationen stärkere Schmerzen haben. Im Gegensatz dazu zeigten iPSC-SN von Patienten mit Nav1.7-bedingter Schmerzunempfindlichkeit eine geringere Erregbarkeit als die von Kontrolllinien. Wichtig ist, dass die Erregbarkeit normalisiert wurde, wenn eine der Mutationen mit CRISPR-Cas9-Genom-Editing korrigiert



wurde [19]. Weitere Beispiele für patientenspezifische iPSC-SN, die zur Untersuchung von Schmerzmechanismen verwendet werden, sind Migräne [26] und eine Reihe verschiedener Arten von Neuropathien wie die Small-Fiber-Neuropathie (SFN) und die Fabry-Krankheit [15]. Small-Fiber-Neuropathien gehen häufig mit einer Verringerung der Anzahl an intraepidermalen Nervenfasern in der Haut im Erwachsenenalter und mit klinischen Symptomen wie chronischen, brennenden Schmerzen einher. Sie wurden mit Varianten in spannungsabhängigen Natriumkanälen in Verbindung gebracht [9], und iPSC-SN sind ein nützliches Modell, um die Auswirkungen dieser Varianten auf die neuronale Erregbarkeit zu untersuchen [25] und möglicherweise die Verbindung zwischen zellulärer Funktion und anatomischem Verlust von Nervenfasern zu untersuchen. Die vererbte sensorische Neuropathie Typ-1 (HSN-1) ist eine schmerzhafte Neuropathie, die vor allem kleine Fasern betrifft und auf heterozygote Mutationen im Gen SPTLC1 zurückzuführen ist. Dies führt zu einem veränderten Sphingolipid-Stoffwechsel und zur Bildung von toxischen Desoxysphingobasen (DSBs). Erhöhte DSBs sind in menschlichen iPSCd-SN von HSN1-Patienten nachweisbar und treten zusammen mit einer verminderten Produktion komplexer Ganglioside, Axondegeneration und Übererregbarkeit auf. Diese wurden verwendet, um modulierende Therapien zu testen, und die Zugabe von Serin, das die DSB-Produktion reduziert, konnte viele dieser Veränderungen verhindern [3].

iPSC-SN für die personalisierte Medizin

Die Entwicklung patientenspezifischer iPSC-SN bietet die Möglichkeit, die Antwort dieser Neurone auf spezifische medikamentöse Behandlungen zu testen. Die Abschwächung der Erregbarkeit patientenspezifischer iPSC-SN in einer Petrischale als Antwort auf ein bestimmtes Medikament würde auf eine Anbindung an die Zielstruktur *in vivo* hindeuten und die Chance erhöhen, dass ein/e Patient/in von einer solchen Behandlung profitiert, während eine schwache Reaktion der Neurone *in vitro* darauf hindeuten würde, dass die Behandlung des/der Patienten/Patientin mit diesem Medikament möglicherweise nicht wirksam ist. Dies ist das Wesen der personalisierten Medizin, die die Notwendigkeit eines Trial-and-Error-Behandlungsansatzes verringert. Es gibt eine kleine Anzahl von Fällen, in denen patientenspezifische iPSC-SN verwendet wurden, bei denen die Kriterien dieses



personalisierten Ansatzes erfüllt zu sein scheinen [1; 25]. Dieser Ansatz ist in kleinen klinischen Studien nützlich, da aber die Herstellung und Pflege von iPSC-SN arbeitsintensiv und teuer ist, muss dieser in größerem Maßstab erfolgen und am besten automatisiert werden, damit er eine breite Anwendung in der Klinik finden kann.

iPSC-SN: genetisches Substrat zur Identifizierung neuer Ziele für die Arzneimittelentwicklung

Mit Ausnahme der Fälle von angeborener Schmerzunempfindlichkeit (CIP) ist die Schmerzreaktion auf einen noxischen Reiz universell, die Erfahrung auf individueller Ebene jedoch variabel. Diese interindividuelle Variabilität in der Reaktion auf denselben Reiz hängt mit genetischen und epigenetischen Faktoren zusammen [4; 6; 17; 24; 42]. Parallelen zwischen Schmerz und Übererregbarkeit von patientenspezifischen iPSC-SN könnten die Möglichkeit bieten, Modifikatorgene zu identifizieren, die zum individuellen Schmerzerleben beitragen. Kürzlich durchgeführte Studien nutzten die Verfügbarkeit von gut phänotypisierten Mitgliedern derselben Familie mit der schmerzhaften Erkrankung Erythromelalgie (IEM), die auf die gleichen Nav1.7-Gain-of-Function-Mutationen S241T oder F1449V zurückzuführen sind und deutliche Unterschiede in den wichtigsten Schmerzmerkmalen aufweisen [10; 20; 38], um ein "Schmerzresilienz-in-der-Petrischale"-Modell zu etablieren und zu validieren, das damit beginnt, Modifikatorgene zu identifizieren, die interindividuelle Unterschiede in der neuronalen Erregbarkeit bewirken, die möglicherweise zu den interindividuellen Unterschieden in den Schmerzsymptomen bei diesen Personen beitragen [23; 38]. Ein objektives Exom-Screening und *In silico*-Analysen identifizierten Varianten der Kaliumkanäle Kv7.2 und Kv7.3 bei den resilienten Probandinnen und Probanden, und funktionelle Tests lieferten Beweise für eine Rolle dieser Varianten bei der Regulierung der Erregbarkeit von iPSC-SNs, was das Vorhandensein einer peripheren Komponente bei Schmerzresilienz untermauert und darauf hindeutet, dass die gezielte Ansteuerung von Kv7-Kanälen ein effektiver Weg der Schmerzbehandlung sein kann. Obwohl Kv7-Kanäle etablierte Zielstrukturen in Schmerzstudien sind und Kv7.2/Kv7.3-Kanalöffner nozizeptive Verhaltensweisen in Tiermodellen abschwächen [7; 35], sind zweifellos zusätzliche Modifikatorgene an der Gesamtreaktion dieser Probandinnen und Probanden auf den Schmerzreiz beteiligt. Dieser zellautonome Ansatz könnte



zur Identifizierung zusätzlicher Modifikatorgene und damit zu neuen Zielen für die Arzneimittelentwicklung führen.

Fazit

Mit patientenspezifischen iPSC-SN steht ein leistungsfähiges zellautonomes System zur Verfügung, um die Erregbarkeit dieser Neurone mit dem Schmerzphänotyp von Patientinnen und Patienten zu korrelieren und die Reaktion auf Medikamente oder andere therapeutische Ansätze zu testen, was den Wert dieser präklinischen Daten für die weitere klinische Entwicklung von Prüfmedikamenten steigert. Allerdings bilden iPSC-SN die Heterogenität menschlicher Spinalganglien-Neurone nicht vollständig ab [8; 22], wenngleich berichtet wurde, dass sie 80 % der in Spinalganglien-Neuronen von Erwachsenen gefundenen Transkriptome teilen [37]. Darüber hinaus ist es mit den derzeitigen Differenzierungsprotokollen nicht gelungen, reproduzierbar alle Komponenten der an der neuronalen Erregung beteiligten Moleküle zu erzeugen, die in nativen Neuronen vorhanden sind [8]. Trotz dieser Einschränkungen haben *In vitro*-Studien mit iPSC-SN und humanen Spinalganglien-Neuronen (sofern verfügbar) bereits zu einem besseren Verständnis der zellulären Grundlagen der Schmerzpathophysiologie geführt und sind vielversprechend für eine erfolgreiche Translation präklinischer Daten zu Prüfmedikamenten und in die klinische Anwendung. Es gibt erfolgversprechende Ansätze, um diese Einschränkungen zu überwinden und den Nutzen von iPSC in präklinischen Studien zu verbessern. Ko-Kulturen von iPSC-SN und aus iPSC gewonnenem Hautgewebe werden zu einem experimentellen "Organ-in-einer-Petrischale"-Modell führen. Weitere spannende Fortschritte sind die Transplantation humaner iPSC in das DRG von Nagetieren *in vivo* [34] und die Züchtung von DRG-Organoiden [18]. Beide Ansätze nutzen die Vorteile des orts- und zellspezifischen Mikomilieus (Mikro-Nische) für die Differenzierung humaner sensorischer Neurone in einer natürlicheren Umgebung. Wir gehen daher davon aus, dass die Verwendung von probandenspezifischen iPSC einen bedeutenden Fortschritt auf diesem Gebiet darstellt und dazu beitragen wird, die translationale Lücke zwischen präklinischem Wissen und der Entwicklung wirksamer Analgetika zu schließen.



Literaturangaben

- [1] Cao L, McDonnell A, Nitzsche A, Alexandrou A, Saintot PP, Loucif AJ, Brown AR, Young G, Mis M, Randall A, Waxman SG, Stanley P, Kirby S, Tarabar S, Gutteridge A, Butt R, McKernan RM, Whiting P, Ali Z, Bilsland J, Stevens EB. Pharmacological reversal of a pain phenotype in iPSC-derived sensory neurons and patients with inherited erythromelalgia. *Sci Transl Med* 2016;8(335):335ra356.
- [2] Chambers SM, Qi Y, Mica Y, Lee G, Zhang XJ, Niu L, Bilsland J, Cao L, Stevens E, Whiting P, Shi SH, Studer L. Combined small-molecule inhibition accelerates developmental timing and converts human pluripotent stem cells into nociceptors. *Nat Biotechnol* 2012;30(7):715-720.
- [3] Clark AJ, Kugathasan U, Baskozos G, Priestman DA, Fugger N, Lone MA, Othman A, Chu KH, Blesneac I, Wilson ER, Laura M, Kalmar B, Greensmith L, Hornemann T, Platt FM, Reilly MM, Bennett DL. An iPSC model of hereditary sensory neuropathy-1 reveals L-serine-responsive deficits in neuronal ganglioside composition and axoglial interactions. *Cell Rep Med* 2021;2(7):100345.
- [4] Denk F, McMahon SB, Tracey I. Pain vulnerability: a neurobiological perspective. *Nat Neurosci* 2014;17(2):192-200.
- [5] Dib-Hajj SD, Tyrrell L, Cummins TR, Black JA, Wood PM, Waxman SG. Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in human dorsal root ganglion neurons. *FEBS Lett* 1999;462(1-2):117-120.
- [6] Dib-Hajj SD, Waxman SG. Translational pain research: Lessons from genetics and genomics. *Sci Transl Med* 2014;6(249):249sr244.
- [7] Du X, Gao H, Jaffe D, Zhang H, Gamper N. M-type K(+) channels in peripheral nociceptive pathways. *Br J Pharmacol* 2018;175(12):2158-2172.
- [8] Eberhardt E, Havlicek S, Schmidt D, Link AS, Neacsu C, Kohl Z, Hampl M, Kist AM, Klinger A, Nau C, Schuttler J, Alzheimer C, Winkler J, Namer B, Winner B, Lampert A. Pattern of Functional TTX-Resistant Sodium Channels Reveals a Developmental Stage of Human iPSC- and ESC-Derived Nociceptors. *Stem Cell Reports* 2015;5(3):305-313.
- [9] Eijkenboom I, Sopacua M, Hoeijmakers JGJ, de Greef BTA, Lindsey P, Almomani R, Marchi M, Vanoevelen J, Smeets HJM, Waxman SG, Lauria G, Merkies ISJ, Faber CG, Gerrits MM. Yield of peripheral sodium channels gene screening in pure small fibre neuropathy. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2019;90(3):342-352.
- [10] Geha P, Yang Y, Estacion M, Schulman BR, Tokuno H, Apkarian AV, Dib-Hajj SD, Waxman SG. Pharmacotherapy for Pain in a Family With Inherited Erythromelalgia Guided by Genomic Analysis and Functional Profiling. *JAMA Neurol* 2016;73(6):659-667.
- [11] Giblin JP, Etayo I, Castellanos A, Andres-Bilbe A, Gasull X. Anionic Phospholipids Bind to and Modulate the Activity of Human TRESK Background K(+) Channel. *Mol Neurobiol* 2019;56(4):2524-2541.
- [12] Han C, Estacion M, Huang J, Vasylyev DV, Zhao P, Dib-Hajj S, Waxman SG. Human Nav1.8: enhanced persistent and ramp currents contribute to distinct firing properties of human DRG neurons. *J Neurophysiol* 2015;113(9):3172-3185.



- [13] Hartung JE, Moy JK, Loeza-Alcocer E, Nagarajan V, Jostock R, Christoph T, Schroeder W, Gold MS. Voltage gated calcium channels in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2021(doi: 10.1097/j.pain.0000000000002465.).
- [14] Inoue S, Murata K, Tanaka A, Kakuta E, Tanemura S, Hatakeyama S, Nakamura A, Yamamoto C, Kosakai K, Yoshino M. Ionic channel mechanisms mediating the intrinsic excitability of Kenyon cells in the mushroom body of the cricket brain. *J Insect Physiol* 2014.
- [15] Klein T, Gunther K, Sommer CL, Edenhofer F, Uceyler N. Generation of patient-derived sensory neurons using iPSCs & smNPCs obtained from patients with Fabry disease. <https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/4376/presentation/19713> 2017.
- [16] Liu C, Au JD, Zou HL, Cotten JF, Yost CS. Potent activation of the human tandem pore domain K channel TRESK with clinical concentrations of volatile anesthetics. *Anesth Analg* 2004;99(6):1715-1722.
- [17] Lotsch J, Doehring A, Mogil JS, Arndt T, Geisslinger G, Utsch A. Functional genomics of pain in analgesic drug development and therapy. *Pharmacol Ther* 2013;139(1):60-70.
- [18] Mazzara PG, Muggeo S, Luoni M, Massimino L, Zaghi M, Valverde PT, Brusco S, Marzi MJ, Palma C, Colasante G, Iannielli A, Paulis M, Cordiglieri C, Giannelli SG, Podini P, Gellera C, Taroni F, Nicassio F, Rasponi M, Broccoli V. Frataxin gene editing rescues Friedreich's ataxia pathology in dorsal root ganglia organoid-derived sensory neurons. *Nat Commun* 2020;11(1):4178.
- [19] McDermott LA, Weir GA, Themistocleous AC, Segerdahl AR, Blesneac I, Baskozos G, Clark AJ, Millar V, Peck LJ, Ebner D, Tracey I, Serra J, Bennett DL. Defining the Functional Role of Nav1.7 in Human Nociception. *Neuron* 2019;101(5):905-919
- [20] McDonnell A, Schulman B, Ali Z, Dib-Hajj SD, Brock F, Cobain S, Mainka T, Vollert J, Tarabar S, Waxman SG. Inherited erythromelalgia due to mutations in SCN9A: natural history, clinical phenotype and somatosensory profile. *Brain* 2016;139((Pt 4)):1052-1065.
- [21] Meents JE, Bressan E, Sontag S, Foerster A, Hautvast P, Rosseler C, Hampl M, Schuler H, Goetzke R, Chi Le TK, Kleggetveit IP, Le Cann K, Kerth C, Rush AM, Rogers M, Kohl Z, Schmelz M, Wagner W, Jorum E, Namer B, Winner B, Zenke M, Lampert A. The role of Nav1.7 in human nociceptors: insights from human iPS cell-derived sensory neurons of erythromelalgia patients. *Pain* 2019.
- [22] Middleton SJ, Barry AM, Comini M, Li Y, Ray PR, Shiers S, Themistocleous AC, Uhelski ML, Yang X, Dougherty PM, Price TJ, Bennett DL. Studying human nociceptors: from fundamentals to clinic. *Brain* 2021;144(5):1312-1335.
- [23] Mis MA, Yang Y, Tanaka BS, Gomis-Perez C, Liu S, Dib-Hajj F, Adi T, Garcia-Milian R, Schulman BR, Dib-Hajj SD, Waxman SG. Resilience to Pain: A Peripheral Component Identified Using Induced Pluripotent Stem Cells and Dynamic Clamp. *J Neurosci* 2019;39(3):382-392.
- [24] Mogil JS. Sources of Individual Differences in Pain. *Annu Rev Neurosci* 2021;44:1-25.
- [25] Namer B, Schmidt D, Eberhardt E, Maroni M, Dorfmeister E, Kleggetveit IP, Kaluza L, Meents J, Gerlach A, Lin Z, Winterpacht A, Dragicevic E, Kohl Z, Schuttler J, Kurth I, Warncke T, Jorum E, Winner B, Lampert A. Pain relief in a neuropathy patient by lacosamide: Proof of principle of



- clinical translation from patient-specific iPSC cell-derived nociceptors. *EBioMedicine* 2019;39:401-408.
- [26] Pettingill P, Weir GA, Wei T, Wu Y, Flower G, Lalic T, Handel A, Duggal G, Chintawar S, Cheung J, Arunasalam K, Couper E, Haupt LM, Griffiths LR, Bassett A, Cowley SA, Cader MZ. A causal role for TRESK loss of function in migraine mechanisms. *Brain* 2019;142(12):3852-3867.
- [27] Price TJ, Basbaum AI, Bresnahan J, Chambers JF, De Koninck Y, Edwards RR, Ji RR, Katz J, Kavelaars A, Levine JD, Porter L, Schechter N, Sluka KA, Terman GW, Wager TD, Yaksh TL, Dworkin RH. Transition to chronic pain: opportunities for novel therapeutics. *Nat Rev Neurosci* 2018;19(7):383-384.
- [28] Renthal W, Chamesian A, Curatolo M, Davidson S, Burton M, Dib-Hajj S, Dougherty PM, Ebert AD, Gereau RWt, Ghetti A, Gold MS, Hoben G, Menichella DM, Mercier P, Ray WZ, Salvemini D, Seal RP, Waxman S, Woolf CJ, Stucky CL, Price TJ. Human cells and networks of pain: Transforming pain target identification and therapeutic development. *Neuron* 2021;109(9):1426-1429.
- [29] Serrano A, Mo G, Grant R, Pare M, O'Donnell D, Yu XH, Tomaszewski MJ, Perkins MN, Seguela P, Cao CQ. Differential expression and pharmacology of native P2X receptors in rat and primate sensory neurons. *J Neurosci* 2012;32(34):11890-11896.
- [30] Soliman MA, Abohara F, Zeltner N, Studer L. Pluripotent stem cells in neuropsychiatric disorders. *Mol Psychiatry* 2017;22(9):1241-1249.
- [31] Tappe-Theodor A, King T, Morgan MM. Pros and Cons of Clinically Relevant Methods to Assess Pain in Rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 2019;100:335-343.
- [32] Tracey I, Woolf CJ, Andrews NA. Composite Pain Biomarker Signatures for Objective Assessment and Effective Treatment. *Neuron* 2019;101(5):783-800.
- [33] Valeyev AY, Hackman JC, Wood PM, Davidoff RA. Pharmacologically novel GABA receptor in human dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 1996;76(5):3555-3558.
- [34] Viventi S, Frausin S, Howden SE, Lim SY, Finol-Urdaneta RK, McArthur JR, Abu-Bonsrah KD, Ng W, Ivanusic J, Thompson L, Dottori M. In vivo survival and differentiation of Friedreich ataxia iPSC-derived sensory neurons transplanted in the adult dorsal root ganglia. *Stem Cells Transl Med* 2021;10(8):1157-1169.
- [35] Wu Z, Li L, Xie F, Du J, Zuo Y, Frost JA, Carlton SM, Walters ET, Yang Q. Activation of KCNQ Channels Suppresses Spontaneous Activity in Dorsal Root Ganglion Neurons and Reduces Chronic Pain after Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma* 2017;34(6):1260-1270.
- [36] Yeziarski RP, Hansson P. Inflammatory and Neuropathic Pain From Bench to Bedside: What Went Wrong? *J Pain* 2018;19(6):571-588.
- [37] Young GT, Gutteridge A, Fox HD, Wilbrey AL, Cao L, Cho LT, Brown AR, Benn CL, Kammonen LR, Friedman JH, Bictash M, Whiting P, Bilsland JG, Stevens EB. Characterizing Human Stem Cell-derived Sensory Neurons at the Single-cell Level Reveals Their Ion Channel Expression and Utility in Pain Research. *Mol Ther* 2014;22(8):1530-1543.



- [38] Yuan JH, Estacion M, Mis MA, Tanaka BS, Schulman BR, Chen L, Liu S, Dib-Hajj FB, Dib-Hajj SD, Waxman SG. KCNQ variants and pain modulation: a missense variant in Kv7.3 contributes to pain resilience. *Brain Commun* 2021;3(3):fcab212.
- [39] Zeltner N, Studer L. Pluripotent stem cell-based disease modeling: current hurdles and future promise. *Curr Opin Cell Biol* 2015;37:102-110.
- [40] Zhang H, Lecker I, Collymore C, Dokova A, Pham MC, Rosen SF, Crawhall-Duk H, Zain M, Valencia M, Filippini HF, Li J, D'Souza AJ, Cho C, Michailidis V, Whissell PD, Patel I, Steenland HW, Virginia Lee WJ, Moayedi M, Sterley TL, Bains JS, Stratton JA, Matyas JR, Biernaskie J, Dubins D, Vukobradovic I, Bezginov A, Flenniken AM, Martin LJ, Mogil JS, Bonin RP. Cage-lid hanging behavior as a translationally relevant measure of pain in mice. *Pain* 2021;162(5):1416-1425.
- [41] Zhang X, Priest BT, Belfer I, Gold MS. Voltage-gated Na⁺ currents in human dorsal root ganglion neurons. *Elife* 2017;6.
- [42] Zorina-Lichtenwalter K, Meloto CB, Khoury S, Diatchenko L. Genetic predictors of human chronic pain conditions. *Neuroscience* 2016;338:36-62.