

Eine Zusammenkunft der Denker

Bereitgestellt von **Jana von Hehn**, PhD

am 7. Juni 2018

Die meisten wissenschaftlichen Meetings besitzen das Ziel, ihre Zuhörer über den aktuellen Stand des Fachbereichs zu informieren, indem sie Daten in zusammengefasster Methode darlegen und die Vortragszeit oft auf Kosten der Diskussionszeit maximieren. Es ist beliebt, klinische und wissenschaftliche Sitzungen getrennt voneinander abzuhalten. Dieses Jahr möchten wir aber bei der Planung unseres Forschermeetings in Boston vom 21. bis zum 24. Mai auf Vorschlag von Monica und Randy eine neue Herangehensweise testen.

Monica und Randy hatten die Weitsicht, dass eine „Zusammenkunft der Denker“ wohl am dringlichsten wäre, bei welcher unsere Basis-Wissenschaftler und unsere fachkundigen Rett-Kliniker sich einander über ihre jeweiligen aktuellen Forschungs- und Entwicklungsstatus austauschen und gemeinsam die bleibenden Schlüsselfragen und die Haupthürden zum Erfolg fokussieren können. Dieses unübliche und möglicherweise riskante Format, in dem vor allem Herausforderungen und Schwierigkeiten in den Fokus genommen werden sollen, wurde konzipiert, um aktive Diskussion zu fördern und zu Brainstorming und Problemlösungen aus neuen Betrachtungswinkeln anzuregen. Es war nicht nur antreibend und provokant, sondern höchst effektiv. Neue Herangehensweisen wurden entwickelt, der Blick über den Tellerrand hinaus gelenkt und neue Zusammenarbeiten begründet.

Die sozialen Aspekte trugen dazu bei, bestehende Beziehungen zu stärken und neue zu fördern. Die Forscher schätzten vor allem die Gelegenheit, sich das ultimative Ziel vor Augen führen zu können, indem sie verschiedene Kinder mit dem Rett-Syndrom aus der Umgebung kennenlernten und einen Einblick in ihre Lebensgeschichten gewannen. Das Bild von Rett-Familien, welche die Anstrengungen der Forscher, das Rett-Syndrom zu besiegen, wertschätzten und würdigten, war durch und durch herzerwärmend.

Das Meeting wurde mit der Basisfunktion des Gens MECP2 und genterapeutischen Ansätzen, die momentan in Entwicklung sind, eröffnet. Darauf folgten Schlüsselmethoden und Modellsysteme im Erforschen von MECP2 sowie Reaktivierungsstrategien von MECP2 und deren Fortschritte. Geschlossen wurde das Meeting mit dem Wissensstand der klinischen Forschung und daraus resultierenden Maßnahmen zur Beurteilung von Therapeutika.

Das Meeting stimmte mich optimistisch und aufgeregt über das, was schon so bald auf uns zukommt. Ich wurde jedoch auch darauf aufmerksam, dass uns auf unserem Weg Herausforderungen begegnen werden. Zusammengefasst kann gesagt werden, dass für das Rett-Syndrom verantwortliche Mutationen aufgrund komplexer Mechanismen, die noch nicht vollständig nachvollzogen werden konnten, die Funktion des Gehirns weitgehend beeinträchtigen. Es ist also nicht überraschend, dass die Adressierung der Hauptursache des Rett-Syndroms durch Wiederherstellung des MeCP2-Proteins in Gehirnzellen effektiver ist, als jene von Therapeutika, die Störungen in einem der zahlreichen stromabwärts gelegenen Leitungen anvisieren. Da die MEPC2-Gene von Maus und Mensch nicht identisch sind, müssen viele der momentan entwickelten neueren biologischen Therapeutika (z.B. RNA-Änderungen, Reaktivierung von MECP2) in den menschlichen Zelllinien mit der Deaktivierung des stabilen X-Chromosoms optimiert werden. Zusätzlich zum Optimismus über die initiale Genterapie mit signifikanten Vorteilen werden Genterapie-Programme der nächsten Generation weiterhin parallel durchgeführt werden. Ein gemeinsames Ziel für diese an einer Heilung orientierten Programme ist es, das einheitliche Zustellen zu allen Gehirnzellen zu gewährleisten und das MeCP2-Proteinlevel in jeder Zelle effektiv zu verbessern.

Wer sich tiefer mit der Forschung befassen möchte, findet im Folgenden die Präsentationsinhalte jeder einzelnen Sitzungseinheit und einige der noch ausstehenden Fragen, welche adressiert werden müssen, detailliert beschrieben.

Die Funktion von MECP2

Wie wir wissen, ist MECP2 zur Regulierung der Genexpression von mehreren hundert Genen zuständig. Es ist schwierig, Verhaltensänderungen im Rett-Mausmodell bei der Evaluation potenzieller Therapeutika aussagekräftig auszuwerten. Der Schweregrad von MECP2-Mutationen bei Menschen lässt sich gut mit der Überlebensdauer von männlichen Rett-Mäusen in Übereinstimmung

bringen, wenn davon ausgegangen wird, dass das Überleben der Maus ein geeigneter Marker für den potenziellen Erfolg von Therapien ist.

Eine lebhafte Debatte setzte bezüglich des minimalen MeCP2-Proteinlevels ein, das für die Verbesserung der Zellfunktion erforderlich ist. Außerdem ist umstritten, wie groß der Anteil von Zellen, der jenes Level erreicht, sein muss, um therapeutische Vorteile zu erzielen. Es wurde bemerkt, dass das Überleben im Rett-Mausmodell bedeutsam verlängert wird, sobald das MeCP2-Proteinlevel die regulären fünf bis zehn Prozent in allen Zellen überschreitet, oder, sobald das reguläre Proteinlevel in zehn bis 40 Prozent der Fälle erlangt wird.

Genetische Herangehensweisen: DNA und RNA

Thematisch am stärksten zum Nachdenken angeregt wurden wir durch die Gentherapie-Sitzung. Eine lebendige Diskussion bestätigte, dass Gentherapie ein neuer therapeutischer Annäherungsversuch ist und, dass wir alle Pioniere auf diesem Gebiet sind. Brian Kaspar von AveXis wies darauf hin, dass alle ermittelten Daten ein gut verträgliches, nicht toxisches gentherapeutisches Produkt ankündigen. Er präsentierte Effizienzergebnisse für AVXS-201 (die klinische Arzneimittelprüfung zu Beginn des nächsten Jahres ansteuernd), die tief greifend besser sind, als jedes Medikament, das zuvor an Mäusen getestet worden war.

Darauffolgende Präsentationen arbeiteten sowohl die Risiken heraus, die mit der Gentherapie im Allgemeinen einhergehen als auch diese, die speziell mit der Gentherapie für das Rett-Syndrom einhergehen. Wir sind jedoch davon überzeugt, dass die FDA suffiziente Erfahrung im Bereich der Gentherapie besitzt, um zu versichern, dass die Studie für die Versuchspersonen so sicher wie möglich ist. Bedeutende Unklarheiten werden bis zur ersten klinischen Studie bestehen bleiben: Wird das Gen MECP2 in hinreichender Menge zu den Gehirnzellen zugestellt werden – und wird das zugestellte Gen eine optimale Menge an MeCP2 in jeder Zelle produzieren? Wir sind nicht in der Lage, den erwarteten Wirkungsgrad der ersten Studie zuverlässig vorauszusagen. Dies berücksichtigend werden wir parallel dazu die Forschung weiterführen, welche die Verbesserung der Zustellung zum Gehirn und die Regulierung der Menge an produziertem MeCP2 fokussiert.

Im neuen, aufkommenden Forschungsgebiet der RNA-Modifikation arbeiten Wissenschaftler daran, sich existierende zelluläre Ausrüstung anzueignen, um Mutationen auf dem Level der RNA zu korrigieren und dabei das reguläre MeCP2-

Level in jeder Zelle wiederherzustellen. Obwohl die Annäherungsversuche wesentlich weniger weit entwickelt sind als die Gentherapie, bringen sie Vorteile für die Regulierung des MeCP2-Proteinlevels in jeder Zelle mit sich. Die Herangehensweise durch RNA-Editing, die vom Mandel-Labor durchgeführt wird, demonstriert die höchste Korrekturrate, die je gemessen wurde – sie liegt bei kolossalen 72%. Das Transsplicing von RNA ist eine alternative Herangehensweise, die das Potenzial hat, über 97% aller MECP2-Mutationen mit einem einzigen Therapeutikum zu berichtigen. Aktuelle Bestrebungen legen den Fokus auf das Optimieren der Wirksamkeit von RNA-Modifikation und treiben die Entwicklung dieser Therapeutika rapide in Richtung der klinischen Arzneimittelprüfung.

Induzierte pluripotente Stammzellen

Ein Schlüsselwerkzeug für die Optimierung vieler der neuen Rett-Therapeutika werden menschliche induzierte pluripotente Stammzellen, hiPSCs, sein. HiPSCs können verwendet werden, um jeden beliebigen anderen Zelltyp zu erzeugen und ermöglichen es den Wissenschaftlern, Gehirnzellen von Rett-Patienten herzustellen. Akademische und industrielle Wissenschaftler berichteten von Fortschritten in der Anwendung von hiPCs, die weiterführend für die Entdeckung und Entwicklung neuartiger Rett-Therapeutika sind. Ein anderes Mittel der Erforschung des Rett-Syndroms ist das Erzeugen von Organoiden aus hiPCs beziehungsweise das Erzeugen von einem „Gehirn in der Petrischale“. Organoide wachsen zu komplexeren Zelltypen und Zellschichten heran. Sie eröffnen informative Wege, die Signaltransduktion abzuschätzen.

Ein einzigartiger Sachverhalt der Forschung an Rett-hiPSCs ist, dass die X-Chromosom-Inaktivierung in diesen Zelllinien herabgestuft werden kann. Wir sind uns noch nicht darüber im Klaren, wie wir die beständige und ganzheitliche Kontrolle erlangen können. Für dieses Gebiet ist es sehr wichtig, die X-Chromosom-Inaktivierung in hiPSCs verstehen und steuern zu können – nicht nur, um therapeutische Entwicklungsansätze zu ermöglichen, sondern auch, um das Potenzial zugrundeliegender Mechanismen für die Reaktivierung von MECP2 des zweiten X-Chromosoms zu nutzen.

Die Reaktivierung von MECP2

Ein Schlüsselreaktor in der X-Chromosom-Inaktivierung ist Xist – eine nichtkodierende RNA, die das Chromosom ummantelt und somit für seine Stilllegung verantwortlich ist. Ist eine Minderung von Xist aber genug, um die Genexpression zu aktivieren oder benötigen wir eine zusätzliche Stufe zur Aktivierung? Mit einer Minderung von Xist scheinen in Mäusen keine negativen Auswirkungen einherzugehen und in zwei bis fünf Prozent kann es zu einer Reaktivierung von MECP2 führen. Ein Anstieg von vier bis zehn Prozent im MeCP2-Proteinlevel hat eine um 25 Prozent erhöhte Überlebenschance zur Folge.

Alternative Ansätze zur Aktivierung von MECP2 mittels der Verwendung von CRIPR/dCas9 oder Zinkfingerproteinen werden ebenso weiterverfolgt. Vor kurzem haben Experimente bewiesen, dass die Veränderung von einer inaktiven Genexpressionssignatur zu einer aktiven Genexpressionssignatur im Zustand des Gens ausreicht, um ein Gen auf dem aktiven X-Chromosom zu aktivieren. Die Voraussetzungen für die Aktivierung von MECP2 auf einem stillgelegten Chromosom werden momentan optimiert.

Bleibende Schlüsselfragen sind zum Beispiel: Kann diese Methode auf Neuronen angewendet werden? Sind die Auswirkungen lang- oder kurzfristig? Wird es eine Immunantwort auf die neuartigen Proteine geben, die verabreicht werden, um das Gen zu aktivieren? Können wir bereits existierende Medikamente verwenden, um die Wirksamkeit der MECP2-Expression zu verbessern?

Klinische Forschung

Die Natural History Study (NHS) zählt momentan beinahe 2000 registrierte Patienten. Die Ergebnisse dieser Beobachtungsstudie führten zu 30 Publikationen – zu verschiedenen Veröffentlichungsterminen bevorstehend oder noch in Bearbeitung. Momentane Bemühungen fokussieren einen erleichterten Zugang zu den Daten – für Familien von Patienten mit dem Rett-Syndrom, unterstützende Branchen des Rett-Syndroms und klinische Studien über das Rett-Syndrom – und die Entwicklung verbesserter resultierender klinischer Mittel. Zusätzliche Ziele schließen die Standardisierung von klinischer Versorgung und die Identifizierung von Biomarkern mit ein.

Neurologische Entwicklungsstörungen sind historisch betrachtet ein schwieriges Forschungsobjekt. Viele in Mausmodellen erfolgreiche Therapien scheitern an der wirksamen Übertragbarkeit auf Menschen. Es wurde vorgeschlagen, dass ein Paradigmenwechsel mit Fokus auf der Erforschung des gesamten Krankheitsbilds

anstatt der Erforschung spezifischer Verhaltensmuster für die FDA erforderlich sein könnte. Ärzte, befürwortende Gruppierungen und die Industrie sind gefordert, die FDA in Anspruch zu nehmen, um verbesserte Beurteilungsmöglichkeiten für die Wirksamkeit von klinischen Prüfungen zu entwickeln. Können Bemessungen menschlicher Zellen die Aussicht auf Wirksamkeit von klinischen Prüfungen für das Rett-Syndrom verbessern?

Neuartige Messungen und Resultate

Das Ermessen von Veränderungen in der Symptomatik von Krankheiten verkörpert eine Schlüsselfunktion in der Entdeckung und im Nachweis erfolgreicher Therapien. Spezifische Skalen über den Schweregrad des Rett-Syndroms, die bedeutende Verbesserungen besser dokumentieren können, werden dringend für Individuen mit dem Rett-Syndrom und deren Familien benötigt. Eine Reihe physiologischer Messungen (Gehirnwellen, Atmungsmuster) alternieren bei Rett-Patienten und könnten zu sachgerechten Biomarkern oder resultierenden Maßnahmen führen.

Über die typischen Messungen, die während eines Klinikaufenthalts durchgeführt werden, hinaus, konstituiert sich die unverfälschte und objektive Datenermittlung der Patientenverfassung über einen kontinuierlichen Zeitabschnitt zu einem Gebiet aktiver Entwicklung. Das Potenzial, Biosensoren und Videoaufnahmen im häuslichen Umfeld anzuwenden, bietet die Gelegenheit zu kontinuierlichen Messungen von Gesundheit, Funktion und Lebensqualität in realem Lebensumfeld.

Zudem werden zelluläres Protein und Stoffwechselsignaturen erforscht, um zerstörte zelluläre Netzwerke und potenzielle fehlerbehebende Therapeutika zu definieren und, um Biomarker zur Anwendung in klinischen Prüfungen zu identifizieren.