

Etablierung einer Plattform zur Testung von Mikrotubuli stabilisierenden Wirkstoffen zur Behandlung von SPG4-HSP



Beate Winner
Prof. Dr. med.

Stammzellbiologische Abteilung
Universitätsklinikum Erlangen,
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg, 91054 Erlangen

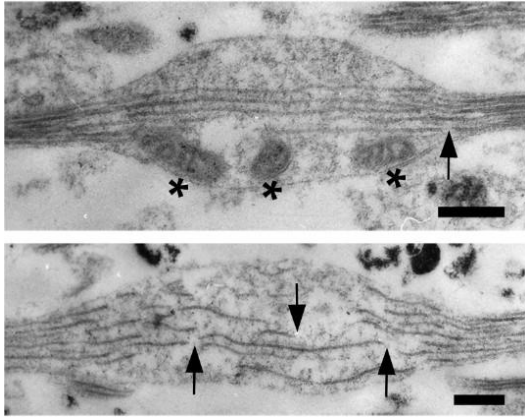


Tania Rizo
Master of Science

Hintergrund:

Charakteristisch für die Form einer Nervenzelle sind ihre feinen Fortsätze, die bis zu einem Meter lang werden können und Kontaktstellen zu anderen Nervenzellen bilden. Um diese wichtige Aufgabe, nämlich die Kommunikation mit anderen Nervenzellen, zu erledigen, müssen die fein verästelten Fortsätze intakt sein und erfolgreich Zellorganellen transportieren. Wichtig hierfür sind Transportschienen (genannt Mikrotubuli) und Zellorganellen, die transportiert werden um die Nervenzellfortsätze und Endigungen zu versorgen. Bei einer häufigen HSP Mutation, der SPG4, finden sich gestörte Transportschienen und Staus von Zellorganellen (zum Beispiel Mitochondrien, die Kraftwerke der Zellen) in diesen Nervenfortsätzen als Hinweis für eine verminderte Transportfunktion. Ziel ist es daher, Substanzen zu finden, die die Transportschienen reparieren/schützen können und so den Stau von Organellen vermindern können. Ein Großteil der bisherigen Arbeiten hierzu wurde in Tiermodellen durchgeführt, die die Symptome von Patienten nicht vollständig widerspiegeln. Mikrotubuli-Stabilisation wird bereits seit langem zur Behandlung von Tumoren angewendet und auch in neurodegenerativen Erkrankungen mit gestörten Transportschienen scheinen Mikrotubuli eine gute Zielstruktur zu sein. Allerdings können derartige Substanzen auch Nebenwirkungen auf periphere Nerven haben, so dass für potentielle Substanzen sowohl die Wirksamkeit als auch potentielle

Nebenwirkungen überprüft werden müssen. Wir sind in der Lage aus Hautzellen von Patienten Nervenzellen mit Fortsätzen herzustellen und unsere früheren Arbeiten konnten zeigen, dass bei SPG4 auch in Patientenzellen die Transportschienen in Nervenzellen Brüche haben und sich dort Zellorganellen ansammeln.



Störungen der Transportschienen (Mikrotubuli) und Ansammlung von Zellorganellen in Nervenzellen von Patienten mit SPG4 HSP (nach Havlicek et al. 2014)

Ziele der Studie:

Ziel dieser Studie ist es, eine Plattform für Nervenzellen von SPG4 Patienten zu etablieren, in der wir die Wirksamkeit von Mikrotubuli modifizierenden Wirkstoffen testen und gleichzeitig die Toxizität für periphere Neurone überprüfen können.

Folgende Zielsetzung soll bearbeitet werden:

1. Nervenzellen werden mit Mikrotubuli modifizierenden Wirkstoffen behandelt und wir analysieren die Transportschienen und messen die Menge von Staus und Anhäufungen von Zellorganellen.
2. Wir werden testen, ob die Mikrotubuli modifizierenden Wirkstoffe in der Lage sind, die Transportfähigkeit von SPG4 Nervenzellen zu verbessern.
3. Für die in den oberen beiden genannten Untersuchungen erfolgreichen Substanzen werden wir zusätzlich überprüfen, ob Mikrotubuli stabilisierende Substanzen einen schädlichen Effekt auf periphere Nervenzellen haben.

Ablauf der Studie:

Wir verwenden aus Patientenzellen generierte Linien mit einer SPG4 Mutation „c.1684C>T“. Als Kontrolle werden sogenannte „isogene“ Linien zur Hilfe genommen. Diese isogenen Linien wurden hergestellt, indem die DNA der entnommenen Zellen der SPG4- Patienten mit Hilfe von CRISPR/Cas9 Technologie korrigiert wurde. Dies hat den Vorteil, gesunde Kontroll-Zellen zu erzeugen die den gleichen genetischen Hintergrund wie der SPG4 Patient haben, aber nicht mehr die SPG4-Mutation beherbergen.

Wir behandeln diese Nervenzellen (SPG4 Patienten und ihre eigenen Kontrollen) mit Mikrotubuli- stabilisierenden Substanzen und

1. testen Transportschienen und messen die Menge von Staus und Anhäufungen von Zellorganellen,
2. analysieren ob Mikrotubuli stabilisierende Substanzen die Transportfähigkeit in SPG4 verbessern,
3. testen für die in den oberen beiden genannten Untersuchungen erfolgreichen Substanzen, ob Mikrotubuli stabilisierende Substanzen einen schädlichen Effekt auf periphere Nervenzellen haben.

Die zu testenden Wirkstoffe werden in erster Linie diejenigen sein, die bereits in klinischen Studien getestet wurden. Folgende Mikrotubuli stabilisierende Substanzen werden verwendet:

- 1) **Paclitaxel.** Durch die FDA zur Behandlung verschiedener Tumorerkrankungen genehmigt. Dieser Wirkstoff stabilisiert die Mikrotubuli, verursacht jedoch dosisabhängig auch Störungen peripherer Nervenzellen. Paclitaxel wird als positive Kontrolle für die Stabilisierung der Mikrotubuli und die Toxizität in peripheren Neuronen verwendet.
- 2) **Noscipin.** Wird für klinische Studien zur Behandlung von SPG4 in Betracht gezogen. Eine Studie zeigte, wie dieser Wirkstoff Mikrotubuli stabilisiert und den axonalen Transport wiederherstellt.
- 3) **AL-108.** Bindet Proteine, die Mikrotubuli-Dynamik regulieren. Der Wirkstoff zeigte bisher kaum Nebenwirkungen. Er wird derzeit in klinischen Studien eingesetzt
 - für progressive supranukleare Lähmung (Phase 3),
 - für Schizophrenie und Tauopathien (Phase 2),
 - für leichte kognitive Beeinträchtigungen (Phase 2).
- 4) **Pregnenolon.** Ein im Körper natürlich vorkommendes Neurosteroid, das an Mikrotubuli assoziierte Proteine bindet. Das Medikament wird derzeit in einer Studie (Phase 4) für bipolare Störungen, Depression und Schizophrenie getestet.
- 5) **DHEA.** Derivat von Pregnenolon. Der Wirkstoff durchläuft zurzeit eine Studie (Phase 3) für systemischen Lupus Erythematosus und myotone Dystrophie.