

# Entwicklung einer intrathekalen AAV9/AP4M1-Gentherapie für hereditäre spastische Paraplegie 50 (SPG50)

(Quelle: Punkt 62 in [2022 ASGCT Annual Meeting Abstracts](#) automatisch übersetzt)

Xin Chen<sup>1</sup>, Thomas Dong<sup>1</sup>, Yuhui Hu<sup>1</sup>, Raffaella DePace<sup>2</sup>, Rafael Mattera<sup>2</sup>, Kathrin Eberhardt<sup>3</sup>, Marvin Ziegler<sup>3</sup>, Mustafa Sahin<sup>3</sup>, Juan S. Bonifacino<sup>2</sup>, Darius Ebrahimi-Fakhari<sup>3</sup>, Steven J. Gray<sup>1</sup>

1 Pädiatrie, UT Southwestern Medical Center, Dallas, TX,

2 Neurowissenschaften und Abteilung für Zell- und Strukturbiologie, NICHD, NIH, Bethesda, MD,

3 Abteilung für Neurologie und F.M. Kirby Neurobiology Center, Boston Kinderkrankenhaus, Harvard Medical School, Boston, MA

Hereditäre spastische Paraplegie Typ 50 (SPG50) ist eine extrem seltene neurologische Erkrankung im Kindesalter, die durch biallelische Verlust-Funktionsvarianten in AP4M1 verursacht wird, das für die Mu-Untereinheit des Adaptorproteinkomplexes 4 (AP-4) kodiert. Der AP-4 ist ein obligatorischer heterotetrametrischer Komplex, der eine wichtige Rolle beim Vesikel-vermittelten Proteintransport spielt. Klinisch ist SPG50 durch eine im Kindesalter auftretende progressive spastische Paraplegie, globale Entwicklungsverzögerung und spätere geistige Behinderung, Mikrozephalie, Fußdeformitäten und Epilepsie gekennzeichnet. Gegenwärtig gibt es keine spezifische Behandlung für SPG50.

Um eine AAV9/AP4M1-Gentherapie für SPG50 zu entwickeln, wurden präklinische Wirksamkeits- und Sicherheitsstudien durchgeführt. In-vitro-Studien der Gruppe von Dr. Ebrahimi-Fakhari zeigten, dass die Ransduktion von Fibroblasten, die von Patienten stammen, mit AAV2/AP4M1 zu einer phänotypischen Rettung führte, einschließlich einer Wiederherstellung des ATG9A-Trafficking und erhöhten AP4E1-Spiegeln, sowie einer Verringerung der Zellüberleben bei der höchsten MOI von 1E5.

Ähnliche Ergebnisse wurden erzielt in unabhängigen In-vitro-Studien der Gruppe von Dr. Bonifacino mit zwei weiteren Fibroblasten-Zelllinien von zwei SPG50-Geschwisterpatienten, bei denen 49 % und 77 % der Fibroblasten von Patient 1 bzw. 2 mit AAV2/AP4M1 gerettet werden konnten. Wichtig ist, dass diese Fibroblasten nach der Infektion keine Anzeichen von Toxizität aufwiesen. In einer laufenden in vivo-Wirksamkeitsstudie wurden Ap4m1-Knockout (KO)-Mäusen intrathekal (IT) hohe (5E11vg), mittlere (2,5E11vg) oder niedrige (1,25E11 32 Molekulare Therapie Band 30 Nr. 4S1, April 2022 AAV Präklinische ZNS-Gentherapie Molekulare Therapie vg) Dosen von AAV9/AP4M1 am postnatalen Tag p7-10 (präsymptomatische Kohorten) oder p90 (frühsymptomatische Kohorten), was zu eindeutigen Alters- und Dosiswirkungen führte, wobei eine frühe Intervention und eine hohe Dosis den besten therapeutischen Nutzen erzielten. So führte beispielsweise die hohe Dosis von AAV9/AP4M1, die bei p7-10 IT injiziert wurde, zu:

- 1) signifikant höhere AP4M1-mRNA-Spiegel in allen untersuchten Hirnregionen;
- 2) minimale Immunreaktionen auf AAV9- oder AP4M1-Peptide;

- 3) minimale Organtoxizität;
- 4) signifikante Verbesserung des gestörten Verhaltens beim Hindlimb Claspings- und Elevated Plus Maze-Test;
- 5) minimale nachteilige Auswirkungen auf das Körpergewicht oder die Überlebensrate; und
- 6) keine neurologischen Anomalien, was auf keine offensichtlichen nachteiligen Auswirkungen hinweist.

Parallel dazu wurden eine nicht-GLP-konforme einjährige Toxizitätsstudie an C57BL/6J-Wildtyp (WT)-Mäusen, eine GLP-konforme dreimonatige Toxizitätsstudie an Sprague-Dawley-WT-Ratten und eine GLP-konforme dreimonatige Toxizitätsstudie an WT-Nichtmenschlichen Primaten (NHP) durchgeführt, um die Sicherheit der Verabreichung von AAV9/AP4M1 weiter zu bewerten. Alle drei Studien wiesen darauf hin, dass AAV9/AP4M1 bis zu einer Zieldosis von  $1E15$  vg beim Menschen ein akzeptables Sicherheitsprofil aufweist. Bei einer höheren Dosis wurden einige unerwünschte Wirkungen festgestellt, wie z. B. erhöhte Erregbarkeit, gesteigerte Aktivität und vermindertes Körpergewicht in der GLP-Studie an Ratten 12 Wochen nach der Verabreichung der höchsten Dosis sowie neuronale Degeneration im lumbalen Dorsalwurzelganglion (DRG) bei höheren Dosen ohne Erholung.

In der Nicht-GLP-Studie am NHS traten bei der Dosis von  $1,68E14$  vg, die einer Humandosis von  $2E15$  vg entspricht, verminderte Nervenleitfähigkeiten im Nervus suralis auf. Interessanterweise wurde sowohl in den Ratten- als auch in den NHS-Toxizitätsstudien ein ähnliches Auftreten bzw. ein ähnlicher Schweregrad der DRG-Toxizität festgestellt, was unser Wissen auf diesem Gebiet erweitert und die Verwendung des Rattenmodells zur Überwachung der DRG-Toxizität in künftigen Studien unterstützt. Zusammengefasst ergaben diese präklinischen Ergebnisse eine akzeptabel sichere und wirksame Dosis von AAV9/AP4M1, die einer Gesamtmenge von  $1E15$  vg entspricht, die IT verabreicht wird. Eine intrathekale Gentransferstudie der Phase I mit  $1E15$  vg AAV9/AP4M1 zur Behandlung von SPG50 wurde von Health Canada genehmigt.