

## Duchenne-Muskeldystrophie.

### Zusammenfassung wichtiger Forschungsergebnisse zwischen Juli und Dezember 2006.

Ein Teil der hier zusammengefaßten neuen Forschungsergebnisse stammt von den Vorträgen, die auf der Konferenz des britischen *Parent Projects* in London am 21. Oktober gehalten wurden, der Rest kam von Veröffentlichungen und vielen persönlichen e-Mails. Die neuen Informationen bauen zum Teil auf dem Bericht auf, den ich über die Jahrestagung des amerikanischen *Parent Project Muscular Dystrophy* geschrieben habe, die vom 13. bis 16. Juli 2006 in Cincinnati/Ohio in den USA stattfand. Dieser Bericht und alle früheren stehen auf meinen Internetseiten [www.duchenne-forschung.de](http://www.duchenne-forschung.de) auf Deutsch, Englisch und Spanisch als pdf-Dateien und können von dort heruntergeladen werden. Die erwähnten Forscher werden hier ohne Titel und, wie in der internationalen Duchenne-Gemeinschaft üblich, oft mit ihrem Vornamen genannt. Sie sind fast alle Professoren und haben einen naturwissenschaftlichen (PhD.) oder medizinischen (MD.) Dokortitel oder beide.

**Klinische Exon-Skipping-Studie in Holland:** *Judith van Deutekom* sagte in London, daß die vier Duchenne-Jungen, die daran teilnehmen, ihre einzigen Injektionen des 2O-Methyl-AONs in den Schienbeinmuskel, Tibialis anterior, gegen Exon 51 bekommen haben, daß es bei allen vier keine Nebenwirkungen gab, und daß bei zweien schon eine Biopsie nach der Behandlung gemacht wurde, in denen auf neu gebildetes verkürztes Dystrophin analysiert wurde. Judith sagte, diese vorläufigen Ergebnisse sind „promising“, also vielversprechend, mehr dürfte sie aber nicht sagen.

Judith sagte am Ende ihres Vortrags, wir sollten vorsichtig sein, denn „we are not there yet“, wir sind noch nicht da. Selbst wenn Exon-Skipping bei einem Jungen funktioniert, bedeutet das nicht, daß es bei anderen auch so sein wird. Jetzt wurde nur eine ganz kleine Stelle in einem Muskel behandelt, und solch eine lokale Behandlung ist nicht das, was gebraucht wird. Gebraucht wird eine systemische Behandlung, bei der alle Muskeln erreicht werden, und das geht nur durch Injektionen in die Blutbahn. Bevor das bei Kindern im nächsten Jahr versucht wird – dann das Skippen von Exon 46 –, muß noch das richtige AON ausgewählt werden und die richtige Dosierung. „But we will get

there“, aber wir werden es schaffen, sagte Judith.

**Klinische Exon-Skipping-Studie in England:** *Francesco Muntoni* leitet die vom MDEX-Konsortium vorbereitete Studie in England, bei der ein Morpholino-AON zum Skippen von Exon 51 zur lokalen Injektion in den Fußmuskel EDB, Extensor digitorum brevis, verwendet wird. Francesco antwortete mir am 18. Dezember auf meine Fragen: Zwei von drei Genehmigungen dafür sind jetzt da, und sobald die dritte auch gekommen ist, wird der erste Junge zur Studie zugelassen werden, das wird wahrscheinlich in der ersten Märzwoche 2007 sein.

Es werden aber keine vorläufigen Resultate der Studie mitgeteilt werden, sondern erst wenn alle Ergebnisse zusammen analysiert und überprüft sind, werden sie zur Veröffentlichung freigegeben. Falls diese erste Studie erfolgreich ist, wird im zweiten Halbjahr 2007 mit der geplanten systemischen Studie begonnen. Deren Ergebnisse werden 2008 vorliegen. Wenn das alles positiv verläuft, können danach die kommerzielle Herstellung der AONs im großen Maßstab und ausgedehnte klinische Studien beginnen.

**Morpholinos gehen doch ins Herz:** Die Morpholino-AONs konnte man bisher bei ihrer systemischen Anwendung nicht dazu

bewegen, auch in die Herzmuskeln von mdx-Mäusen zu wandern. Das war ein großer Nachteil der Morpholinos, die die Engländer verwenden wollen, im Vergleich zu den 2O-Methyls, mit denen die Holländer arbeiten, und die auch im Herzen der Mäuse Exon-Skipping machen. In London berichtete *Dominic Wells*, daß die Morpholinos doch in die Mäuseherzen gehen, wenn man bei der Injektion in die Blutbahn gleichzeitig das Kontrastmittel Optison gibt – das sind Mikroalbuminblasen – und dabei auf das Herz gezielt Ultraschall mit einem gewöhnlichen Ultraschallgerät richtet. Der Ultraschall öffnet Poren in den Muskelzellmembranen, die Morpholinos können durchschlüpfen, und wenn der Ultraschall aufhört, gehen die Poren wieder zu. Das Exon-Skipping in den Skelettmuskeln wird dadurch nicht beeinflußt. Bis man aber mit dieser einfachen Technik klinische Versuche mit Kindern beginnen kann, werden noch einige Jahre vergehen.

**Exon-Skipping mit Gentransfer in Frankreich:** Über diese Versuche der Arbeitsgruppe um *Luis García* in Paris, bei denen die Gene für die AONs mit AAV-Vektoren in die Kerne der Muskelzellen transportiert werden, habe ich bereits berichtet. Bekannt war, daß es damit gelang, das Exon 23 der mdx-Mäuse mit dem vorzeitigen Stoppcodon darin langfristig – bisher mindestens ein Jahr lang – zu skippen. Luis berichtete in London, daß das jetzt auch an dystrophischen Hunden funktionierte, diesen Hunden, die richtig krank sind, und etwa genauso viele Muskeln haben wie ein kleines Kind. Sie haben aber eine komplizierte Mutation, die nur durch ein multiples Skipping der Exons 6, 7 und 8 zu reparieren ist. Und trotzdem gelang das! Allerdings hatten unsere französischen Freunde nicht genug Viren, die mit U7-RNA und AON-Sequenzen beladen waren, um den ganzen Hund damit zu behandeln. Deswegen blockierten sie die Blutzirkulation in einem Bein und

injizierten in dessen Venen innerhalb von 15 Minuten praktisch alle ihre 100 Billionen ( $10^{14}$ !) präparierten Viren. Es gab Ödeme, aber das war gut so, denn deswegen wanderten die Viren ohne Probleme dahin, wohin sie sollten. Es gab eine ganze Menge neues verkürztes Dystrophin, das zwar nicht ganz gleichmäßig in den Beinmuskeln verteilt war, von dem aber ungefähr soviel wie bei einem Becker-Patienten vorhanden war. Und nach 6 Monaten war es immer noch da. Jetzt wird schon eine Phase-I klinische Studie mit Duchenne-Kindern vorbereitet bei der auch das Exon 51 geskippt werden soll. Eine solche Behandlung mit Virenvektoren wird eine Unterdrückung der Immunabwehr benötigen.

Luis und seine Leute arbeiten auch daran, diese Behandlung mit einem ähnlichen Gentransfer zu kombinieren, bei dem das Gen für Myostatin blockiert wird. Das wurde schon an Mäusen, allerdings mit wenig Erfolg, ausprobiert, weil die ihre Muskeln zu schnell regenerieren. Jetzt versuchen sie es an Hunden. Im nächsten Jahr soll darüber berichtet werden.

**Klinische Gentransfer-Studie in den USA:** *Scott McPhee* von der Fa. Asklepios in North Carolina, die mit *Jerry Mendell* in Columbus/Ohio eine Mini-Dystrophin-Gentransfer-Studie mit AAV-Vektoren begonnen hat, teilte mir am 21. Dezember mit, daß jetzt vier der sechs in die Studie aufgenommenen Jungen ihre Biostrophin-Injektionen in die Bizepsmuskeln erhielten. Der vierte Junge gehörte schon zur zweiten Dreiergruppe, die eine hohe Dosis der Vektoren bekommen haben. Bisher sind bei allen Jungen keine störenden Nebenwirkungen aufgetreten. Mitte 2007 werden vorläufige Ergebnisse vorliegen, die dann unverzüglich bekanntgemacht werden. Die ausführlichen endgültigen Daten werden danach veröffentlicht.

**Ignorieren von vorzeitigem Stoppsymbol mit PTC124:** *Richard Finkel* von der Fa. PTC in New Jersey besprach in London

Einzelheiten der klinischen Studien mit der Substanz PTC124. Dieses neuartige Medikament, dessen Struktur geheimgehalten wird, kann als Tabletten verabfolgt werden. In der jetzt beendeten Phase-II klinischen Studie an 26 Duchenne-Jungen mit vorzeitigem Stoppcodons konnte bei einer Dosis von 18 mg/kg/Tag und 40 mg/kg/ Tag nach 4 Wochen Behandlung bei einigen Kindern, die die höhere Dosis bekamen, das erwartete Dystrophin mit normaler Länge als vorläufiges Ergebnis nachgewiesen werden. Da es bei dieser Studie und auch bereits bei der Phase-I-Studie zu keinen Nebenwirkungen kam, und weil aber auch die Menge des neuen Dystrophins noch zu gering ist, um einen genügenden und nachweisbaren therapeutischen Effekt zu haben, wird jetzt ein weiterer Phase-II-Versuch durchgeführt mit 12 Duchenne-Jungen, die dann aber 80 mg/kg/ Tag PTC124 bekommen werden, um eine Konzentration von mindestens 10 Mikrogramm/mL im Blutserum zu erhalten. Die endgültigen Daten werden im Laufe von 2007 veröffentlicht, danach sollen Langzeitstudien über drei bis sechs Monate durchgeführt werden.

Wichtig ist, daß es sich bei dieser Behandlung um eine richtige Heilung handeln würde, falls alle klinischen Versuche erfolgreich verlaufen, denn das neue Dystrophin hat praktisch die normale Länge, es wäre kein Becker-Dystrophin, wie es beim Exon-Skipping zu erwarten ist. Andererseits können nur diejenigen 10 bis 15% der Duchenne-Jungen davon profitieren, die eine Punktmutation haben, die zu einem vorzeitigem Stoppcodon geführt hat. Deswegen ist es wichtig, daß die genaue Mutation aller kranken Jungen bekannt sein sollte.

**Mesoangioblasten bringen lahme Hunde wieder zum Laufen** (so stand es in der FAZ): Es handelt sich dabei um Stammzellen aus Blutgefäßwänden, die bei dystrophischen Hunden dramatische Funktionsverbesserungen gebracht haben,

wie *Giulio Cossu* und Mitarbeiter aus Mailand in der Nature-Ausgabe vom 30. November berichteten. Diese Veröffentlichung (auf Englisch) und ein Kommentar von *Jeffrey Chamberlain* sowie ein Interview mit Giulio (beides auf Deutsch) können von mir per e-Mail angefordert werden. Giulio schrieb mir am 9. Dezember, daß ich wahrscheinlich im Februar Informationen bekommen werde über seine Arbeiten zur Isolierung dieser Stammzellen aus menschlichem embryonalen Blutkapillargewebe. So etwas würde in Deutschland natürlich nicht erlaubt sein. Außerdem hat er noch ein wirksames Medikament („an efficacious drug“) gefunden, das aber noch geheim bleiben muß.

**Hochregulieren von Utrophin:** *Kay Davies* von der Universität Oxford und *Jon Tinsley* von der Fa. Vastox in Oxford berichteten in London, daß sie durch automatisches Testen von ca. 13.000 chemischen Verbindungen etwa 100 gefunden haben, die Utrophin in Zellkulturen hochregulieren können. Einige davon konnten das Utrophin auf mehr als das Vierfache erhöhen. Sie werden weiter chemisch optimiert. Die Behandlung von mdx-Mäusen mit der Substanz VOX 185 konnte über den A-Promoter das Utrophin praktisch exklusiv in den Muskeln hochregulieren und in den Mäusen eine deutliche Verbesserung der Funktion erreichen. Andere Experimente mit Mäusen hatten schon gezeigt, daß eine um das Zwei- bis Dreifache erhöhte Utrophin-Menge deutliche therapeutische Wirkungen hat, und man hofft, mit einer optimierten VOX-185-Verbindung eine Hochregulierung um das Fünf- bis Siebenfache zu erreichen. Mitte 2007 sollte ein effektives potentiell Medikament fertig sein, das als Tabletten gegeben werden kann, damit alle Muskeln erreicht werden. In den Jahren danach werden dann die notwendigen klinischen Studien folgen.

**Hemmung von Myostatin:** Die Fa. Wyeth Pharmaceuticals in den USA hat den

Antikörper gegen Myostatin MYO-29 jetzt an 108 erwachsenen Muskelkranken in einer Phase I/II klinischen Studie getestet. Darunter waren auch Becker-Patienten. Die Studie ist jetzt fertig, die Ergebnisse, die anscheinend positiv sind, werden im Frühjahr 2007 bekanntgemacht werden.

**Der Myoblastentransfer funktioniert wieder:** Jacques Tremblay aus Québec City in Kanada hat mich Ende September ganz ausführlich über seine neuen Versuche zum Myoblastentransfer informiert, der jetzt „Transfer myogener Zellen“ genannt werden sollte, um ihn von den Machenschaften von Peter Law zu unterscheiden. In einem klinischen Versuch mit 9 Duchenne-Patienten konnte gezeigt werden, daß in 8 Patienten bis zu 26% Muskelfasern mit neuem normalen

Dystrophin erhalten wurden nach der Injektion von normalen myogenen Zellen, die von einem gesunden Elternteil stammten, und die lokal in einen kleinen Bereich des Schienbeinmuskels in nur 1-2 mm Abstand injiziert wurden. Zur Zeit wird eine zweite Studie durchgeführt an einem Muskel, an dem man dann einfach eine funktionelle Verbesserung feststellen könnte. Dieser Zelltransfer hätte einige Vorteile, davon seien hier nur genannt: Das neue Dystrophin hätte die normale Länge, es wäre unter Kontrolle seiner normalen Kontrollsequenzen, der positive Effekt wäre langfristig, Immunprobleme könnten gelöst werden, die Technik ließe sich mit einer Myostatin-Hemmung kombinieren und, vor allem, sie könnte auch noch älteren Duchenne-Patienten helfen.

Dr. rer. nat. Günter Scheuerbrandt  
Im Talgrund 2, 79874 Breitnau

Diese Zusammenfassung habe ich am 21. Dezember 2006 geschrieben. Wer meine zukünftigen Forschungsberichte und Interviews per e-Mail zugeschickt bekommen möchte, schreibe mir bitte seine e-Mail-Adresse an [gscheuerbrandt@t-online.de](mailto:gscheuerbrandt@t-online.de).