



Leids Universitair
Medisch Centrum

Stand van zaken Duchenne therapie onderzoek

Annemieke Aartsma-Rus

2 juni 2018

AFDELING HUMANE GENETICS, LUMC, LEIDEN



Dystrofine eiwit



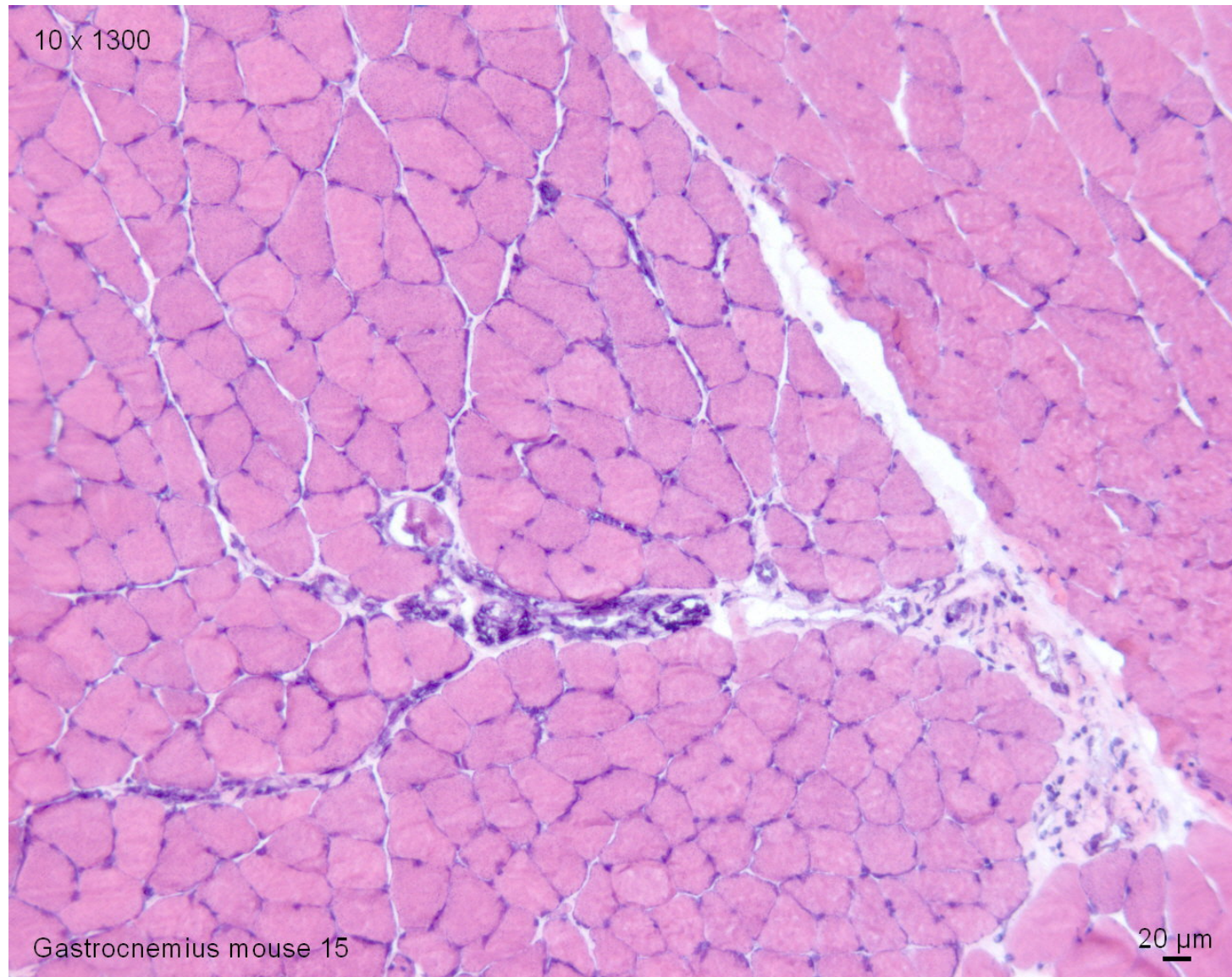
Dystrofine eiwit

- Verbindt actine in spiervezel met laagje bindweefsel rondom spiervezel
- Levert stabiliteit aan spier tijdens contractie
- Duchenne patiënten kunnen geen dystrofine maken door een fout in hun dystrofine gen
- Zonder dystrofine:
 - Continue spierschade
 - Verminderde spierherstel, ontsteking en littekenweefselvorming
 - Verlies spiervezels en spierfunctie

Behandeling Duchenne

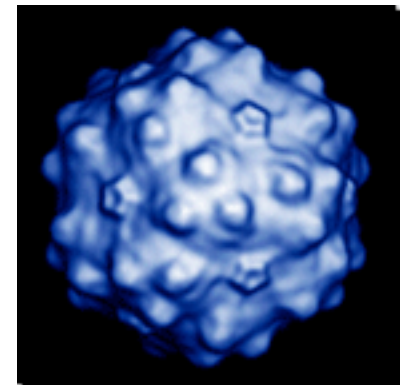
- Zorg: multidisciplinair → symptomatisch
- Onderzoek naar andere therapieën
- Er is heel veel gaande → overzicht in het NL zie DPP website: <https://duchenne.nl/onderzoeksprojecten/>
- Nu focus op
 - Gen therapie
 - Genome editing (crispr/cas)
 - Verbeteren spierkwaliteit (kort)

Gen therapie



Gentherapie

- Functioneel gen toedienen aan spieren patienten
- Mutatie onafhankelijk
- Via virale vector: AAV
 - + infecteert spier en is niet pathogeen
 - - capaciteit voor DNA is laag → alleen kleine genen passen
 - → Microdystrofine



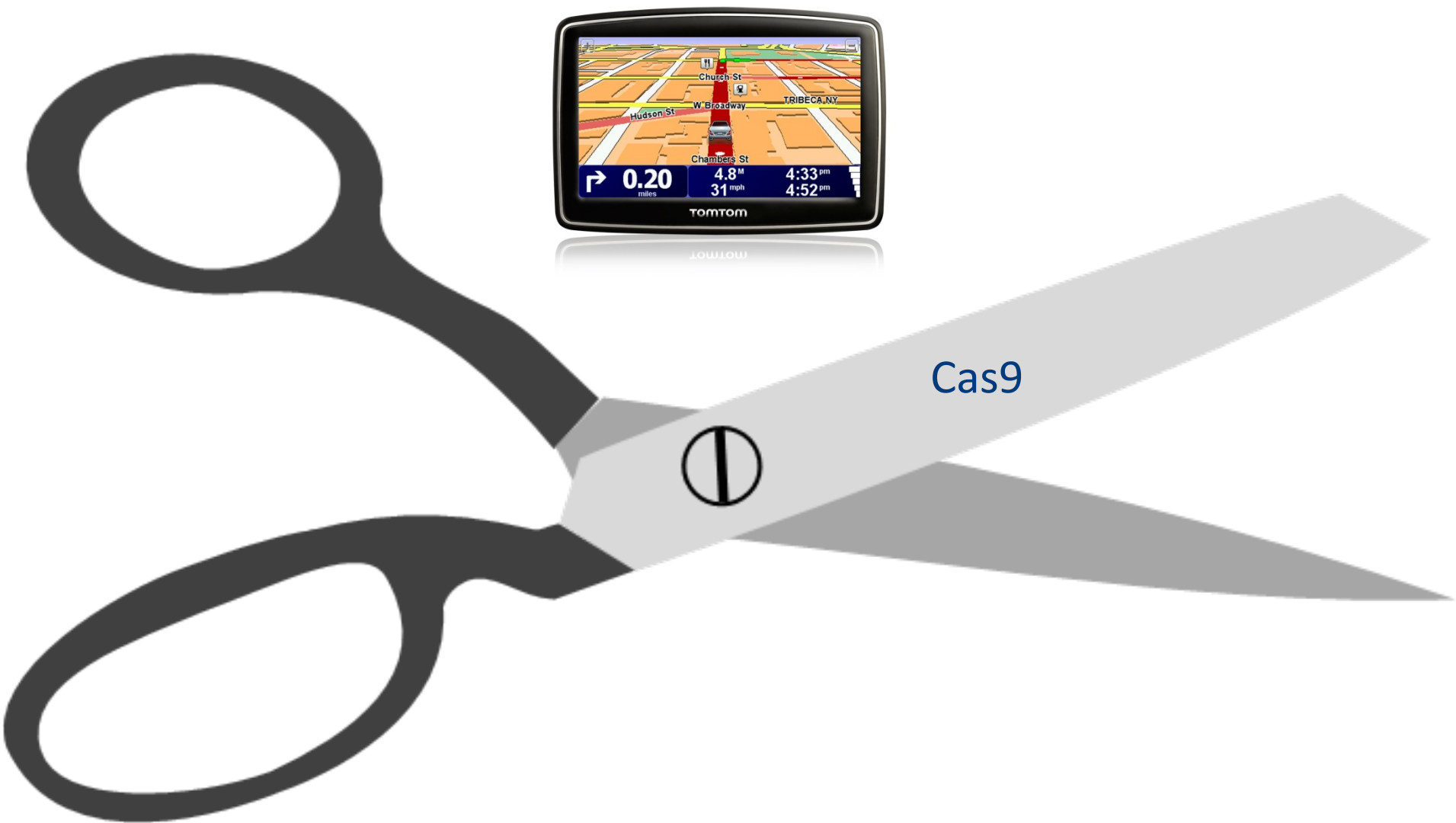
Gen therapie

- Klinische studies gaande (systemisch)
 - Colombus (Mendell): 2 patienten behandeld
 - Pfizer: 2 patienten behandeld
 - Solid: 1 patient behandeld → on hold
- Richting de toekomst:
 - Productie
 - Immuniteit voor AAV
 - Hoe lang komt microdystrofine tot expressie?
 - Veiligheid op lange en korte termijn?

Genome editing voor Duchenne

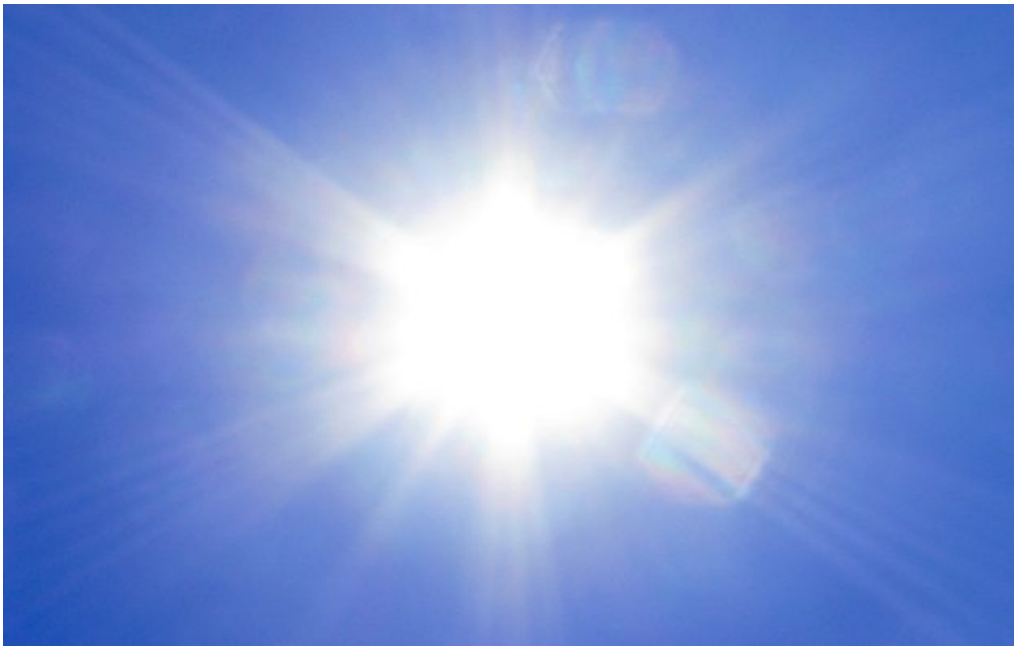
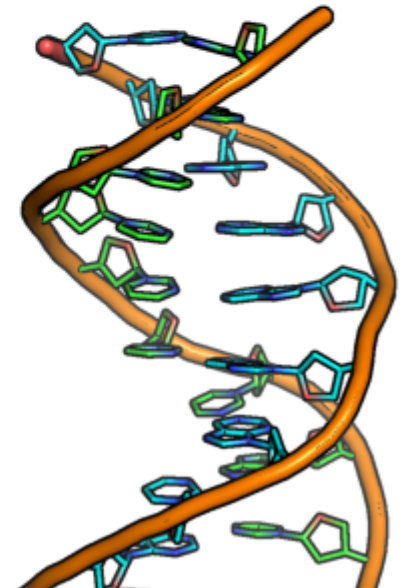
- Wat is CRISPR/Cas9 en hoe werkt het?
- Hoe kan het worden gebruikt als therapie voor Duchenne?
- Waarom is iedereen zo enthousiast?
- Wat is er gedaan?
- Wat moet er nog gebeuren?
- Misvattingen

Genome editing



Waarom DNA knippen?

- DNA gevat blauwdruk voor eiwitten
- DNA schade is NIET goed
- We lopen iedere dag DNA schade op
- Dit wordt ZSM hersteld door het lichaam



DNA schade herstel

DNA schade

Herstel

Uitwisseling (delende cellen)

Herstel zonder fouten



Lijm (niet delende cellen)

Plakt breukpunten aan elkaar

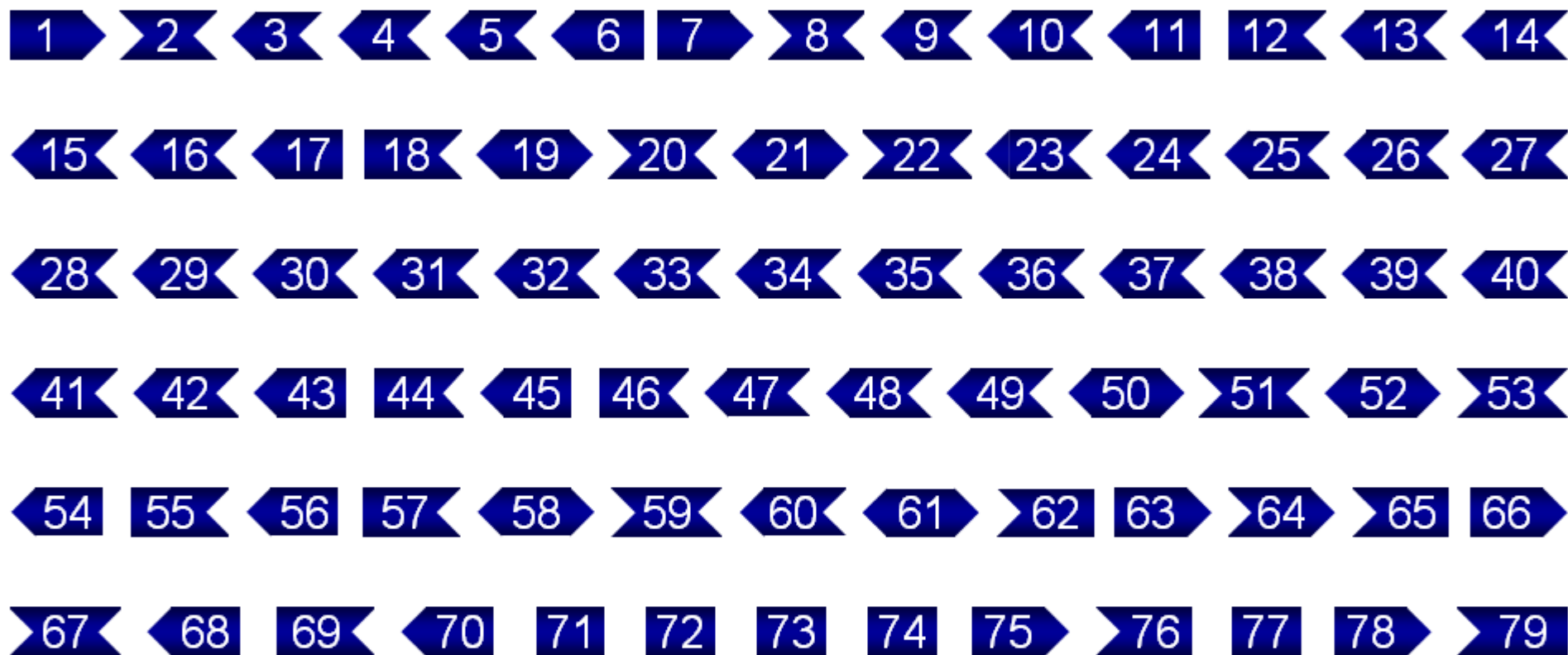
Gaat informatie verloren



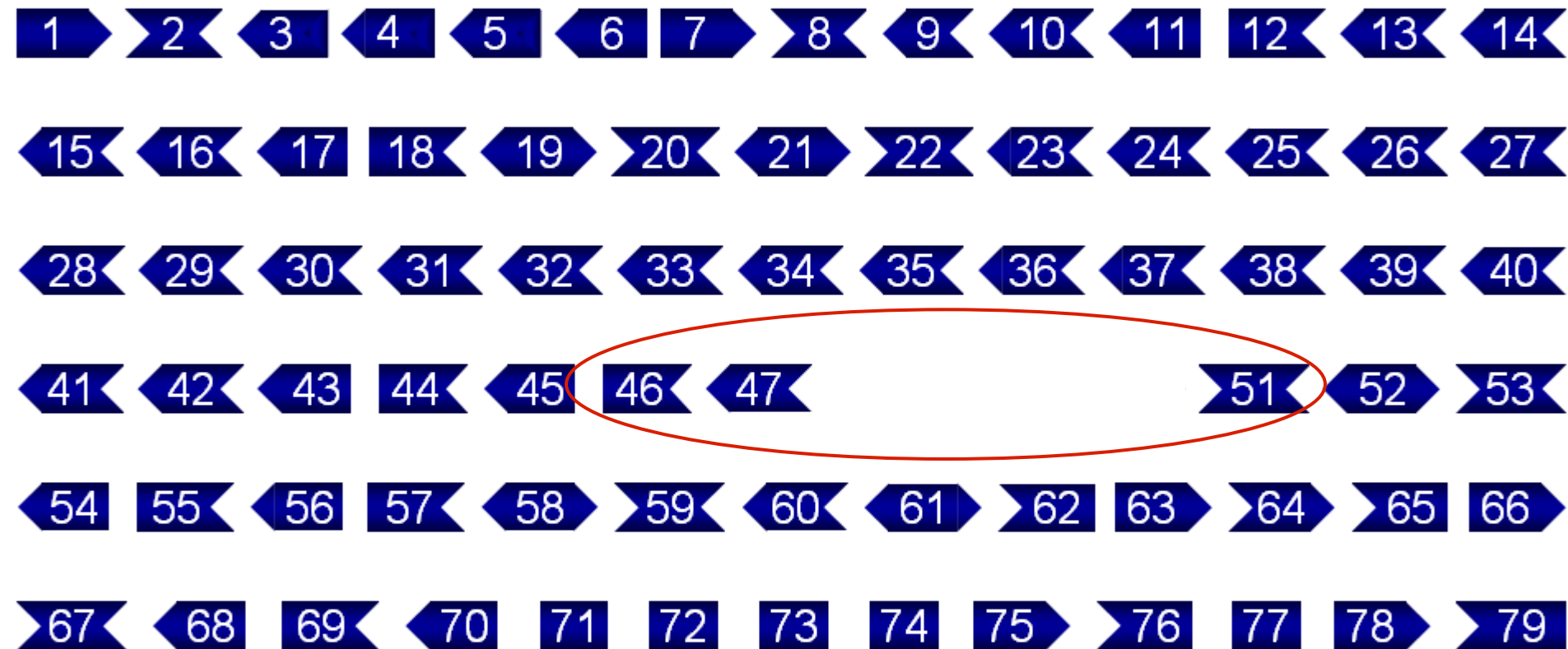
DNA schade herstel in spieren

- Spieren zijn niet delende cellen
- Alleen het lijm systeem beschikbaar
- Hierdoor ontstaan fouten in het DNA
- Waarom zou je dit willen?
 - Permanent exon skippen
 - Wat is exon skippen?

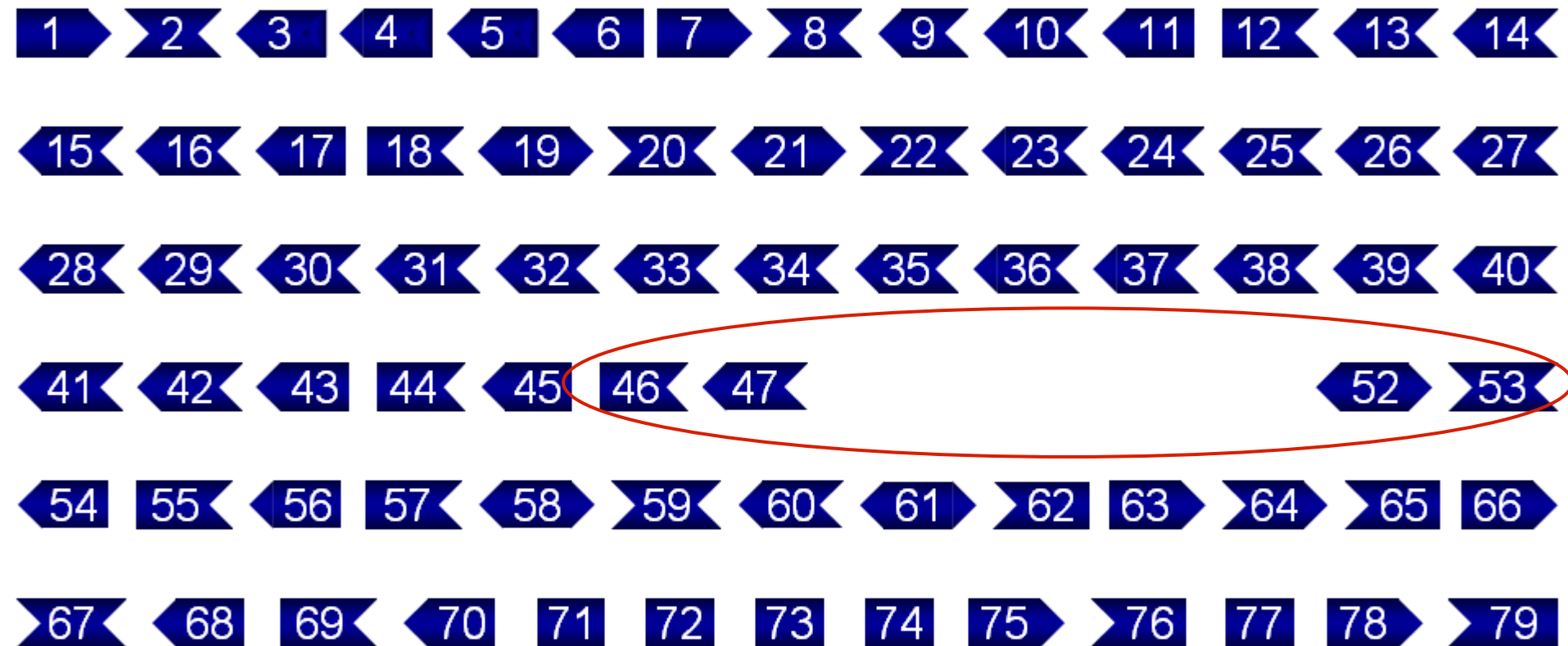
Dystrofine gen



Duchenne: genetische code verstoord



Becker: genetische code behouden



Genetische code herstellen



Code hersteld



Deels functioneel dystrofine

Exon skippen

- Herstelt genetische code op transcript niveau
- Tijdelijk effect → wekelijkse behandeling
- Herstellen code op DNA niveau → permanent effect
- Dit kan met genome editing
- Voordelen tov exon skippen
 - Eenmalige behandeling
 - Kunt eenvoudiger meerdere exonen verwijderen
 - Werkt ook voor duplicaties

Het werkt! In muizen....

Science AAAS

REPORT

In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy

Christopher E. Nelson^{1,2}, Chady H. Hakim³, David G. Ousterout^{1,2}, Pratiksha I. Thakore^{1,2}, Eirik A. Moreb^{1,2}, Ruth M. Castellanos Rivera⁴, Sarina Madhavan^{1,2}, Xiufang Pan³, F. Ann Ran^{5,6}, Winston X. Yan^{5,7,8}, Aravind Asokan⁴, Feng Zhang^{5,9,10,11}, Dongsheng Duan^{3,12}, Charles A. Gersbach^{1,2,13,*}

REPORT

In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells

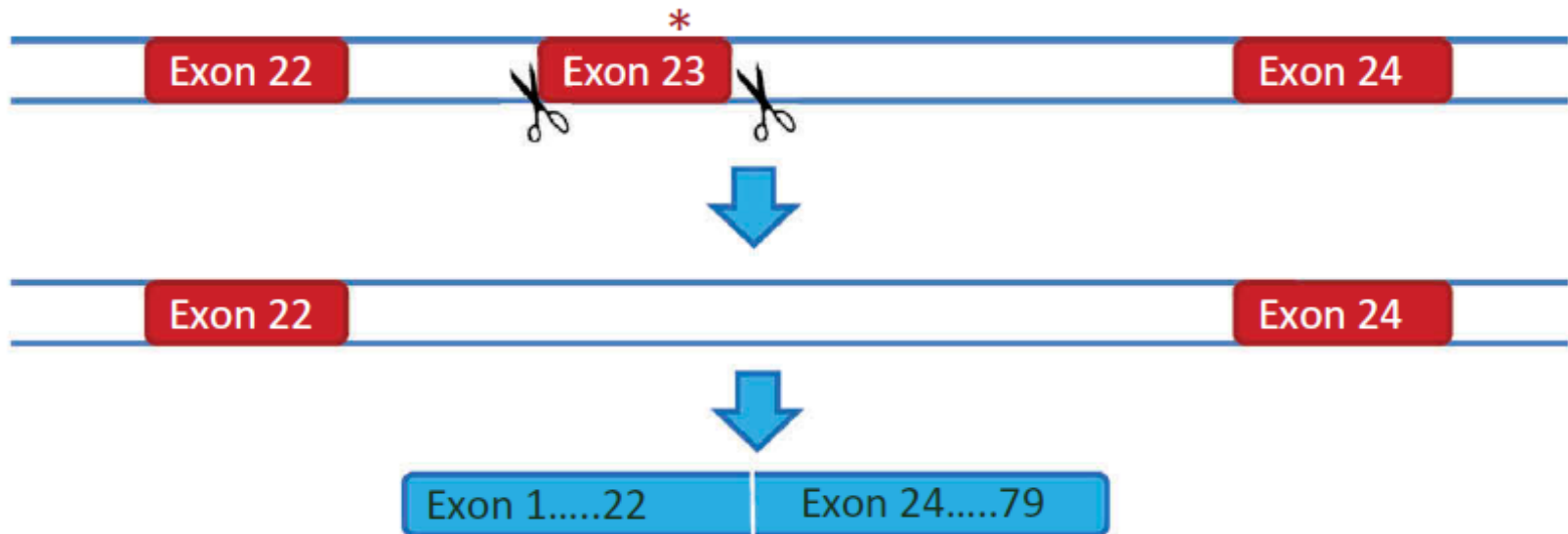
Mohammadsharif Tabebordbar^{1,2,*}, Kexian Zhu^{1,3,*}, Jason K. W. Cheng¹, Wei Leong Chew^{2,4}, Jeffrey J. Widrick⁵, Winston X. Yan^{6,7}, Claire Maesner¹, Elizabeth Y. Wu^{1,†}, Ru Xiao⁸, F. Ann Ran^{6,7}, Le Cong^{6,7}, Feng Zhang^{6,7}, Luk H. Vandenberghe⁸, George M. Church⁴, Amy J. Wagers^{1,‡}

REPORT

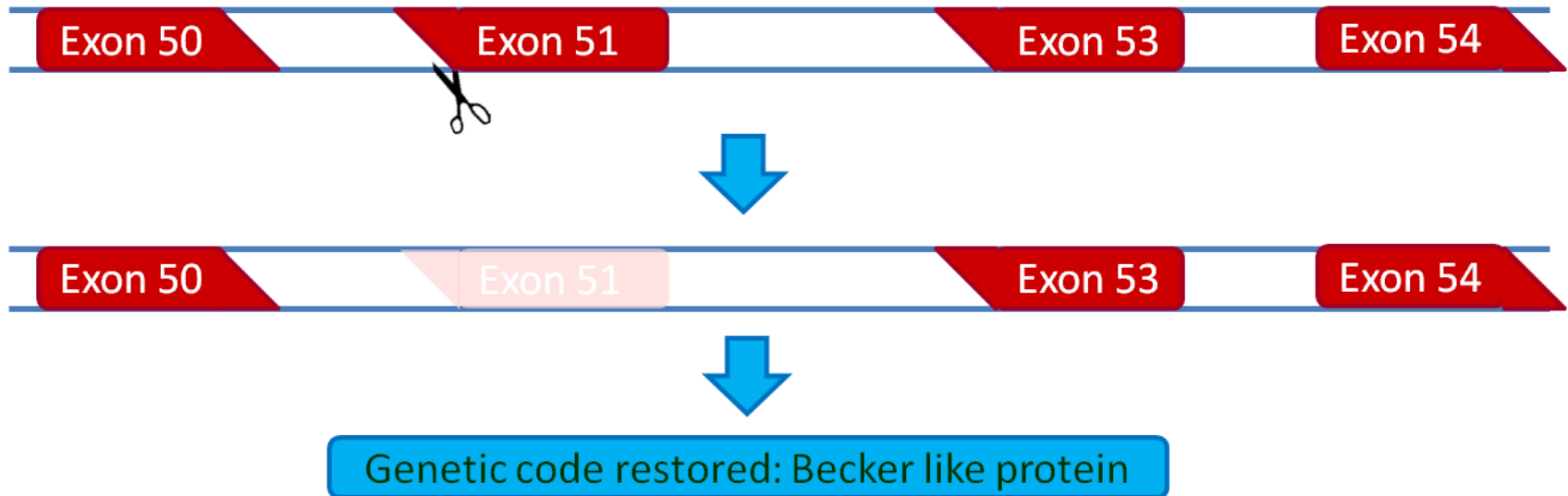
Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy

Chengzu Long^{1,2,3,*}, Leonela Amoasii^{1,2,3,*}, Alex A. Mireault^{1,2,3}, John R. McNally^{1,2,3}, Hui Li^{1,2,3}, Efrain Sanchez-Ortiz^{1,2,3}, Samadrita Bhattacharyya^{1,2,3}, John M. Shelton⁴, Rhonda Bassel-Duby^{1,2,3}, Eric N. Olson^{1,2,3,†}

Het werkt! In muizen....

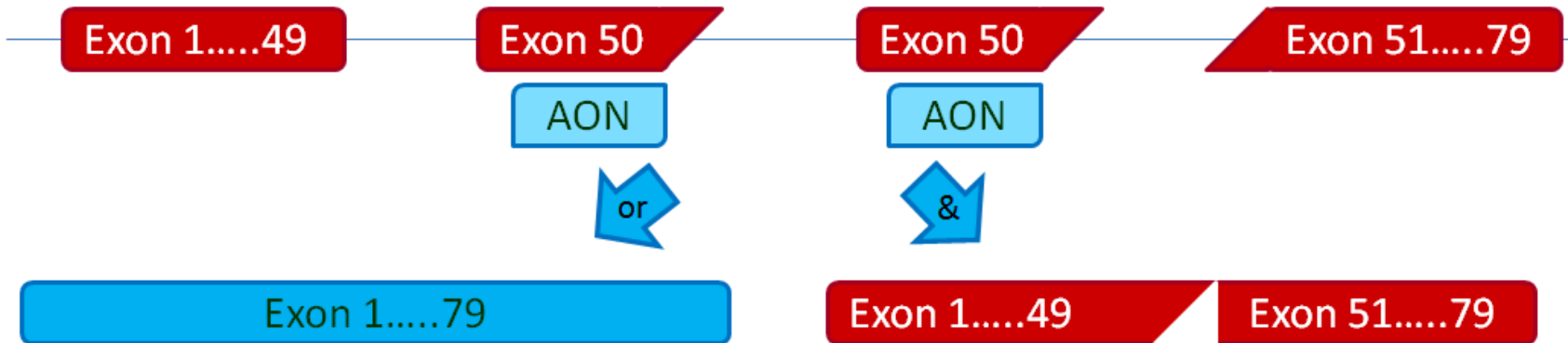


Het werkt! In gekweekte cellen

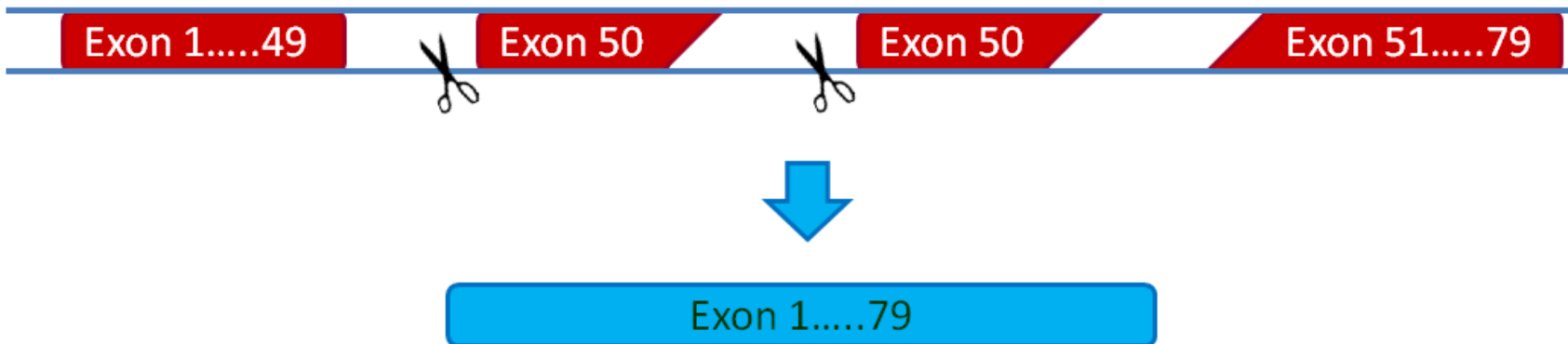


Het werkt! In gekweekte cellen

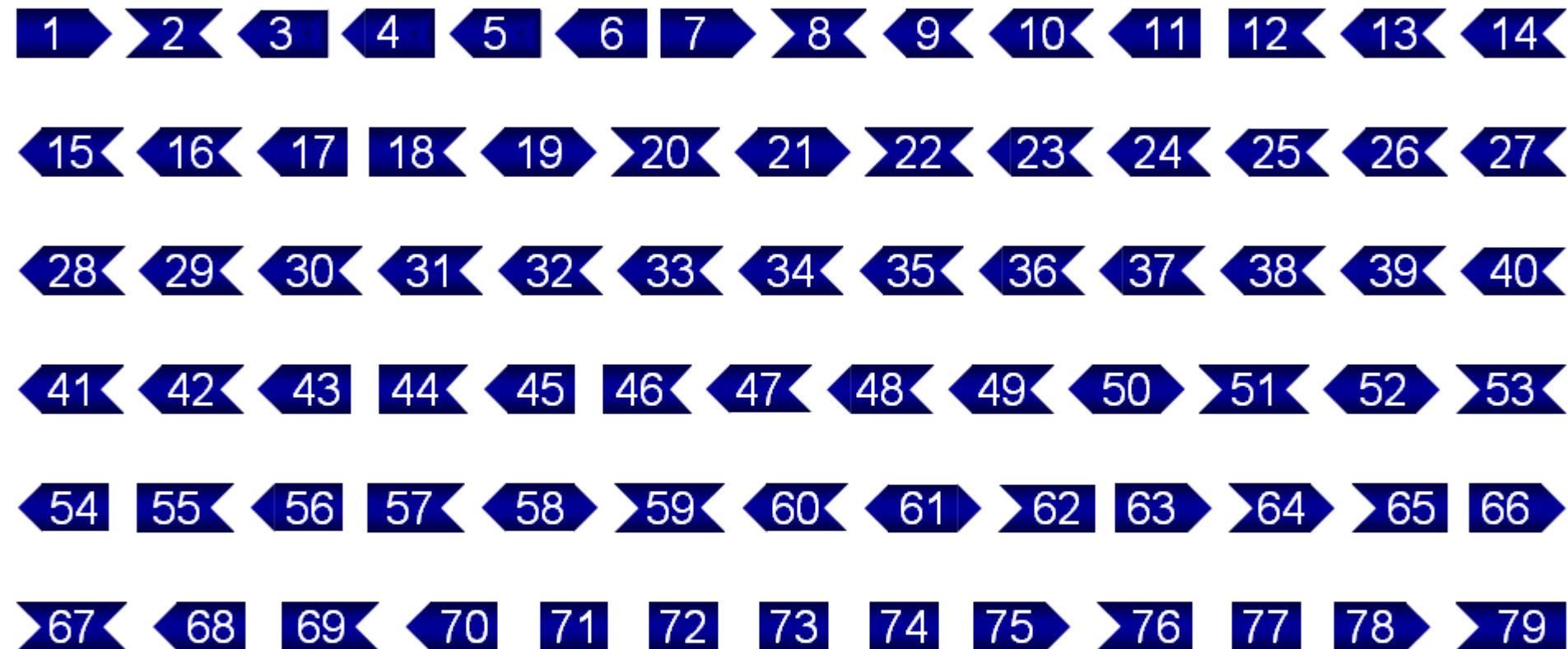
Exon skippen



Genome editing



Multixon skippen



Waarom is men zo enthousiast?

- Techniek biedt veel mogelijkheden
 - Gerichte modificatie van het DNA
 - Genereren ziektemodellen en therapeutische opties
 - Biedt mogelijkheden die er vooralsnog niet waren
 - Makkelijk te doen (in cellen)
 - Veel voorbeelden dat het gelukt is in DMD cellen
- Veel aandacht in de media

Welke stappen moeten genomen worden?

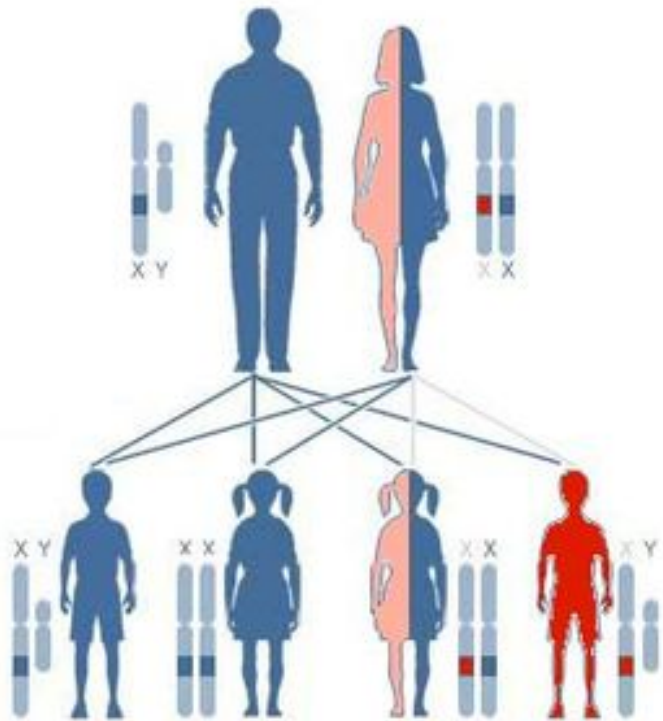
- Toediening
 - Hoe krijgt je de scharen en de GPS in spieren?
 - Virale vectoren (AAV)
 - Getest in klinische studies voor gen-additie
 - Twee componenten systeem
 - Tweestaps raket
- Efficiëntie
 - Antilichamen tegen schaar (Cas9) eiwit
- Veiligheid
 - Hoe specifiek zijn de scharen?
 - Integratie AAV vectoren

“CRISPR Cure”

- Niet voor Duchenne
- Voor meeste mutaties wordt de code hersteld
 - Becker-achtige eiwitten
 - Deels functioneel
- Effect hangt af van tijd van behandeling
 - Verlies van spieren en spierfunctie is irreversibel
 - Dus vroegtijdig behandelen!

Ingrijpen in het embryo

- Kan alleen als je weet dat moeder draagster is
- Als je weet dat moeder draagster is: embryo selectie



U.S. National Library of Medicine

Naar de toekomst

- Genome editing heeft potentie voor Duchenne
 - Maken nieuwe modelsystemen
 - Toepasbare therapie...niet op korte termijn
- Is geen genezing

Exon skippen: stand van zaken

- Exon 51 skip (eteplirsén, morfolino, Sarepta)
 - Goedgekeurd in de VS
 - Wordt niet goedgekeurd in Europa met huidige data
- Andere exonen
 - Morfolino voor exon 53 (Sarepta en Nippon Sinyaku)
 - Morfolino voor exon 45 (Sarepta)
- “Betere exon 51 skippers”
 - WaVe en Sarepta

Verbeteren spierkwaliteit

- Zonder dystrofie
 - Continue spierschade
 - Ontsteking
 - Remming spierherstel
 - Littekenweefsel vorming

Verbeteren spierkwaliteit: trials

- Idebenone (antioxidant, minder fibrose)
 - Myostatine remmen (meer spiergroei)
 - Givinostat (beter herstel, minder ontsteking)
 - Vamorolone (minder ontsteking)
 - Tamoxifen (minder fibrose, meer herstel)
-
- Herstelt dystrofine NIET
 - Toekomst: hopelijk combinatie therapie

Richting de toekomst

- Momenteel nog geen therapie voor Duchenne in NL
- Middelen in ontwikkeling
 - Dystrofine herstel
 - Spierkwaliteit verbeteren
- Focus op zorg
 - Is nu beschikbaar
 - Bewezen vertraging van het ziekteproces