

Molekulare und zelluläre Therapieansätze für die Huntington-Erkrankung

Was ist am Horizont?

Zacharias Kohl, Erlangen

Bis heute existieren für die erbliche neurodegenerative Huntington-Erkrankung nur symptomatische Behandlungsmöglichkeiten. Allerdings konnte die Erkrankung und ihr Verlauf insbesondere in der Frühphase in den letzten Jahren durch internationale Beobachtungsstudien sehr präzise charakterisiert werden. Zur Behandlung werden derzeit intensiv experimentelle Therapieansätze entwickelt. Dabei stellen gentherapeutische Methoden einen innovativen Ansatz dar, um die Pathophysiologie der Erkrankung selbst zu beeinflussen. Auch Verfahren zur Zelltransplantation, besonders von Stammzellen, werden weiterhin intensiv untersucht, um neue Therapieoptionen für die betroffenen Patienten zu schaffen.

Schlüsselwörter: Huntingtin, Transplantation, Antisense-Oligonukleotide, Striatum

Psychopharmakotherapie 2015;22:95–100.

Die Huntington-Erkrankung

Die Huntington-Erkrankung (Huntington's disease, HD) ist eine chronische neurodegenerative Erkrankung, die autosomal-dominant vererbt wird und deren genetische Ursache in der Vermehrung eines CAG-Basen-Triplets im Huntington-Gen (Chromosom 4) liegt [42]. Das physiologische Protein Huntingtin (HTT) besteht aus etwa 3100 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von rund 348 kDa. Es findet sich in Nervenzellen sowohl nukleär als auch zytoplasmatisch lokalisiert. Durch die Vermehrung der CAG-Triplets trägt mutiertes Huntingtin einen verlängerten Poly-Q-Abschnitt am N-terminalen Ende. Physiologisches Huntingtin ist an verschiedenen Prozessen in Nervenzellen wie etwa intrazellulären Transportvorgängen oder der Regulation der Transkription beteiligt, die genaue physiologische Funktion konnte jedoch bislang nicht endgültig geklärt werden [9]. Intrazelluläre Ansammlungen mutierten Huntingtins in Form von Einschlusskörperchen und Aggregaten stellen das neuropathologische Charakteristikum dieser Erkrankung dar, die damit wie die Alzheimer-Demenz und

die Parkinson-Erkrankung zu den Aggregationserkrankungen gezählt wird. Die Huntington-Erkrankung tritt weltweit mit einer Häufigkeit von 5 bis 10/100 000 auf, allerdings mit regionalen Unterschieden [46]. Mit am höchsten ist die Prävalenz in Westeuropa (12,3/100 000 in Großbritannien) [38]; eine auffällige Häufung gibt es außerdem in der Population am Maracaibo-See in Venezuela [35]; geringer ist die Prävalenz dagegen in Asien und Afrika mit 0,1/100 000. Klinisch wird die Erkrankung zu den hyperkinetischen Bewegungserkrankungen gezählt, da generalisierte unwillkürliche Bewegungen (Chorea) ein wichtiges klinisches Leitsymptom darstellen. Allerdings beschränkt sich das Beschwerdebild der Patienten bei weitem nicht auf die choreatischen Bewegungen: Fast immer finden sich auch eine Störung der Feinmotorik sowie dystone, aber auch hypokinetiche Symptome bis hin zu einem Parkinson-ähnlichen klinischen Bild. In der Frühphase der Erkrankung sind die Hyperkinesen oft in Gesten und Stereotypen verborgen. Die Lebensqualität der Patienten wird jedoch oft stärker durch Persönlichkeitsveränderungen

und psychische Symptome eingeschränkt, insbesondere Depression, Zwangssymptome, Apathie und Reizbarkeit [43]. Diese gehen den motorischen Symptomen oft Jahre voraus, ohne dass eine Diagnose gestellt wird. In den vergangenen Jahren wurde außerdem deutlich, dass kognitive Einschränkungen ein sehr charakteristisches Muster mit frontal-exekutiven Beeinträchtigungen zeigen und die Patienten in ihrer Lebensqualität dadurch stärker eingeschränkt sein können als durch die motorischen Symptome [33]. Der tatsächliche Beginn der Erkrankung ist durch das Auftreten charakteristischer motorischer Symptome definiert, während man vorher von präsymptomatischen Genträgern spricht, auch wenn psychische und kognitive Störungen schon deutlich früher auftreten können. Derzeit existieren keine den Verlauf der Huntington-Erkrankung beeinflussende Therapieoptionen. In einem multimodalen Behandlungsansatz wird aktuell

Dr. Zacharias Kohl, Universitätsklinikum Erlangen, Molekulare Neurologie, Schwabachanlage 6, 91054 Erlangen, E-Mail: zacharias.kohl@uk-erlangen.de

das Ziel verfolgt, Symptome zu mildern und die Lebensqualität der Patienten zu verbessern. Die medikamentöse Therapie orientiert sich hauptsächlich an den Symptomen, die von den Patienten als störend empfunden werden. Zur Behandlung der Hyperkinesen werden verschiedene Substanzen eingesetzt, allerdings existiert nur für Tetrabenazin eine ausreichende Studienlage [20]. Alternativ können auch Tiaprid, Sulpirid, Olanzapin oder Benzodiazepine eingesetzt werden. Obwohl auch für die Behandlung der psychiatrischen Symptome kaum Studien existieren, haben sich Antidepressiva als gut wirksam erwiesen. Insgesamt sind allerdings evidenzbasierte Behandlungsoptionen weiterhin sehr limitiert, sodass erst durch die Einrichtung großer Registerstudien und die Zusammenarbeit im Rahmen von Netzwerken (Europäisches Huntington-Netzwerk EHDN, Huntington-Study Group) die Voraussetzungen für größere klinische Studien geschaffen wurden. In den vergangenen Jahren konnte dadurch zum einen die Erkrankung deutlich präziser charakterisiert werden, zum anderen wurde eine Vielzahl von Skalen entwickelt, um die verschiedenen klinischen Aspekte der Huntington-Erkrankung zu erfassen. Auch bildgebende Methoden wurden weiterentwickelt, um die Progression der Erkrankung besser zu erfassen [41]. Außerdem wurden die Anstrengungen im Bereich der präklinischen Forschung deutlich erhöht, um in absehbarer Zeit neue, die Pathophysiologie der Huntington-Erkrankung direkt beeinflussende Therapieformen zu entwickeln.

Gentherapeutische Behandlungsansätze

Nukleäre Einschlusskörperchen und zytoplasmatische Aggregate bestehend aus fehlgefaltetem, *mutiertem* Huntingtin (mHTT) stellen das neuropathologische Korrelat der Huntington-Erkrankung dar [12]. Im Gegensatz zu anderen neurodegenerativen Aggregationserkrankungen ist das mutierte Huntingtin-Protein *kausal* für die Pathogenese der Erkrankung. Somit sollte die

Reduktion von mHTT zu einer signifikanten Verminderung aller dadurch ausgelösten Pathomechanismen führen, besonders der Toxizität gegenüber Nervenzellen, vorausgesetzt, man erreicht mit dem Therapieansatz die betroffenen Zielstrukturen im Gehirn. Generell besteht zum einen die Möglichkeit, mithilfe molekularer Methoden primär die Bildung der spezifischen Messenger-RNA (mRNA) für mHTT während der Transkription im Zellkern zu unterdrücken; alternativ führt der gezielte vorzeitige Abbau der mRNA für mHTT zu einer gestörten Translation und damit zu einer verminderten Bildung des mutierten Huntingtins. Erste Studien in einem transgenen Tiermodell hatten gezeigt, dass eine Tetracyclin-regulierte Reduktion von mHTT zu einer funktionellen Verbesserung und einer Abnahme der Einschlusskörperchen führt [47]. Davon ausgehend wurden neue molekulare Therapiestrategien entwickelt, von denen derzeit drei besonders Erfolg versprechend erscheinen:

- Die sogenannte RNA-Interferenz (RNAi), bei der sogenannte „short interfering RNA“ (siRNA) verwendet wird, um spezifische mRNA abzubauen,
- die Unterdrückung der Translation mithilfe einzelsträngiger DNA-basierter Antisense-Oligonukleotide (ASO) und
- die Verringerung der Transkription mithilfe sogenannter Zinkfinger-Proteine (ZFP).

All diese Strategien werden gelegentlich etwas überschwänglich als „gene silencing“ („Stummschaltung von Genen“) bezeichnet, richtiger ist eher der Begriff „Huntingtin-Reduktion“ („Huntingtin lowering“). Nur ein Teil davon stellt eine Gen-Therapie im engeren Sinne dar (ZFP, einige RNAi-Methoden), allerdings beruhen alle auf molekular-genetischen Mechanismen.

Nukleotid-basierte Unterdrückung der Bildung von HTT

Sowohl RNAi als auch die Verwendung von ASO (Antisense-Oligonukleotide) beruhen auf einer Hemmung der Translation, also darauf, die Men-

Abkürzungen

| | |
|-------|---------------------------------------------------|
| ASO | Antisense-Oligonukleotid(e) |
| ESC | embryonale Stammzellen |
| HD | Huntington-Erkrankung |
| HTT | Huntingtin (Protein) |
| iPSC | induzierte pluripotente Stammzellen |
| mHTT | mutiertes Huntingtin |
| miRNA | Mikro-RNA |
| MSN | medium spiny neurons (Interneurone des Striatums) |
| RNAi | RNA-Interferenz |
| siRNA | short interfering RNA |
| ZFP | Zinkfinger-Protein(e) |

ge an mRNA für mutiertes Huntingtin in vivo zu reduzieren. Dabei binden synthetische modifizierte Nukleotide an die Huntingtin-mRNA und führen über verschiedene Wege zu ihrem Abbau und in der Folge zu einer reduzierten Bildung des Huntingtins. Bei der *RNA-Interferenz* stellt die wirksame Substanz entweder ein siRNA oder ein sogenanntes Mikro-RNA(miRNA)-Molekül dar: Gebundene Huntingtin-mRNA wird zytoplasmatisch mithilfe des sogenannten RISC(RNA-induced silencing complex)-Komplexes abgebaut. Dagegen wird von *Antisense-Oligonukleotiden* gebundene mRNA intranukleär mithilfe der sogenannten RNase H inaktiviert.

Beide Technologien haben sich in den vergangenen Jahren, ausgehend von Untersuchungen in transgenen Mausmodellen, deutlich weiterentwickelt [8, 18]. Zunächst wurde dabei die gleichzeitige (nicht Allel-spezifische) Reduktion von mutiertem und physiologischem Huntingtin erreicht, auch die ersten klinischen Studien werden diesen Ansatz verwenden. So konnte in präklinischen Studien eine gegen Huntingtin gerichtete siRNA, die mithilfe eines sogenannten viralen Vektors (Adeno-assoziiertes Virus) in das Striatum von transgenen Mäusen injiziert wurde, eine deutliche Reduktion der Menge an Huntingtin sowie eine klinische Verbesserung erreichen [39]. Eine nicht Allel-spezifische RNAi in Rhesusaffen führte ebenfalls zu einer Reduktion von Huntingtin im Striatum oh-

ne relevante Nebenwirkungen [17]. An Patienten getestet wurden siRNA im Rahmen klinischer Studien bereits zum Beispiel zur Behandlung der altersbedingten Makuladegeneration.

Auch die ASO-Technologie ergab vielversprechende präklinische Ergebnisse: Gegen HTT-mRNA gerichtete Antisense-Oligonukleotide wurde in den Liquorraum von transgenen Mäusen appliziert, was zu einer anhaltenden, über die Behandlung hinausgehenden Besserung klinischer Symptome, sowie zu einer Reduktion von HTT-mRNA auch im Gehirn von Rhesusaffen über mehrere Wochen führte [22]. Ein wichtiger Vorteil der Antisense-Oligonukleotide stellt die Möglichkeit dar, diese gegen verschiedene Regionen auf der jeweiligen mRNA zu richten. Auch gelangen Antisense-Oligonukleotide problemlos in den Zellkern.

Ob eine länger anhaltende Reduktion von Huntingtin auch bei Menschen möglich ist, ist derzeit noch offen. Allerdings existieren bereits erste Erfahrungen mit der Verwendung von Antisense-Oligonukleotiden bei der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen: Die Applikation von Antisense-Oligonukleotiden in den spinalen Liquorraum bei Patienten mit familiärer amyotropher Lateralsklerose (SOD1-Mutation) wurde gut vertragen [27]. Auf Basis dieser Erfahrungen wird für 2015 eine Phase-I-Studie mit Huntington-Patienten vorbereitet, welche die ASO-Technologie zum ersten Mal an Patienten testet (<http://www.isispharm.com/Pipeline/Therapeutic-Areas/SevereandRare.htm#ISIS-HTTRx>). Insgesamt stellt dies einen wichtigen Schritt zur weiteren Entwicklung der molekularen Therapie bei der Huntington-Erkrankung dar.

Risiken der molekular-genetischen Reduktion von HTT

Generell ergeben sich bei den molekularen Behandlungsansätzen erhebliche Herausforderungen, insbesondere hinsichtlich der Sicherheit: Sowohl Effekte der Behandlung an anderen Stellen im Genom („off-target“) als auch das Problem der Reduktion von physiolo-

gischem Huntingtin können noch nicht mit Sicherheit vorhergesehen werden. Physiologisches Huntingtin spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Nervensystems, und ein komplettes „Abschalten“ von Huntingtin in erwachsenen Mäusen führt zu Neurodegeneration [14, 28]. Allerdings erzeugte eine Reduktion von Huntingtin um 75% mithilfe von Antisense-Oligonukleotiden in transgenen Mäusen keine signifikanten Nebenwirkungen. Zu hoffen ist, dass die Effekte der partiellen Reduktion vom mutiertem Huntington-Protein bei Patienten die Folgen niedrigerer Mengen an physiologischem Huntingtin überwiegen [2]. Des Weiteren ist nicht klar, inwieweit synthetische Oligonukleotide selbst toxisch wirken oder Autoimmunprozesse anstoßen können, unabhängig von ihrer Wirkung auf die Genexpression. Allerdings wurden bereits wirksame Nukleotidsequenzen so modifiziert, um die Bindung an andere mRNAs zu minimieren und damit „off-target“-Effekte zu verhindern. Auch zeigen Studien an Rhesusaffen sowohl für RNAi als auch für Antisense-Oligonukleotide ermutigende Resultate ohne schwerwiegende Nebenwirkungen [17, 26, 40].

Allel-spezifische Gentherapie

Zudem ist es wichtig zu unterscheiden, ob durch den gentherapeutischen Ansatz spezifisch nur das *mHTT*-Allel ausgeschaltet wird (Allel-spezifisch) oder die Bildung beider Formen, also des mutierten genauso wie des physiologischen Huntingtins unterdrückt wird (nicht allel-spezifisch). Obwohl nicht klar ist, welche Funktion physiologisches Huntington-Protein bei Gesunden hat [16], muss mittelfristig das Ziel einer therapeutischen Anwendung beim Menschen sein, allel-spezifische Technologien zu entwickeln [15, 19]. Allerdings bergen diese ein etwas höheres Risiko für „off-target“-Effekte, wenn etwa Poly-Q-Elemente in anderen Genen fälschlicherweise gebunden werden. Eine interessante Alternative sind siRNA, die so gestaltet werden, dass sie sogenannte „single nucleotide polymorphisms“ (SNPs) auf dem mutierten

Allel erkennen können. Mithilfe dieser SNPs kann dann das *mHTT*-Allel erkannt werden, beispielsweise mit drei verschiedenen SNPs in bis zu 80% der westeuropäischen HD-Population [36]. Auch hier bestehen Risiken bezüglich „off-target“-Effekten, da mehrere unterschiedliche Moleküle eingesetzt werden müssen. Verschiedene Modifikationen an den gegen die Genexpression von *HTT* gerichteten Antisense-Oligonukleotiden ermöglichten eine Allel-spezifische Reduktion von *mHTT* in präklinischen Modellen [8, 15]. Zum aktuellen Zeitpunkt ist es jedoch wahrscheinlicher, dass zunächst nicht Allel-spezifische Strategien in klinischen Studien getestet werden, da diese Technologie wesentlich weiter fortgeschritten ist.

Die Problematik der Verteilung

Eine weitere große Herausforderung ist die Applikation und die Verteilung der Substanzen, welche die HTT-Bildung unterdrücken sollen, im menschlichen Gehirn. In Rhesusaffen diffundieren Antisense-Oligonukleotide, die in den lumbalen Spinalraum injiziert werden, relativ gut in den zerebralen Kortex, jedoch deutlich geringer etwa ins Striatum. siRNA verteilt sich generell schlechter und wird weniger gut aufgenommen, allerdings kann dies durch verschiedene Methoden verbessert werden, wie etwa die Verwendung von viralen Vektoren, Exosomen, Bindung an Cholesterin oder auch die Applikation von sogenannten „single stranded“-siRNA [1, 13, 24, 48]. Möglicherweise könnte auch ein dualer Ansatz mit verschiedenen Applikationsformen für das Striatum und den Kortex eine vielversprechende Alternative sein, wie erste präklinische Ergebnisse zeigen [45]. Auch werden derzeit beispielsweise molekulare Shuttle-Systeme entwickelt, die Substanzen leichter die Blut-Hirn-Schranke überwinden lassen [29]. Generell sind Fragen nach Dosis, Applikationsdauer und Wirksamkeit in einem Gehirn der Größe wie beim Menschen noch nicht abschließend geklärt und müssen in klinischen Studien weiter geprüft werden.

Zinkfinger-Proteine

Eine weitere neue Entwicklung stellen sogenannte Zinkfinger-Proteine (ZFP) dar, die vergleichbar zu Transkriptionsfaktoren spezifische DNA-Erkennungselemente enthalten und nach Bindung an die Ziel-DNA die Transkription, also die Übersetzung der DNA in RNA, hemmen [34]. In der Theorie kombiniert dieser Ansatz die Effekte von RNAi auf die Translation mit dem zusätzlichen Vorteil, dass auch die Bildung von Varianten der HTT-mRNA unterdrückt wird. Erste Daten in präklinischen Modellen zeigten eine selektive Unterdrückung von mHTT und funktionelle Verbesserungen. Auch wenn erneut insbesondere die Applikation und Verteilung der Substanzen eine wichtige Hürde darstellen, könnte diese Technologie noch mehr im Sinne einer Genom-verändernden Therapie verstanden werden, in der verlängerte CAG-Repeats tatsächlich aus dem Genom von Nervenzellen entfernt werden [23].

Stammzellbasierte Therapiekonzepte zur Behandlung der Huntington-Erkrankung

Die Huntington-Erkrankung ist durch einen progredienten Verlust von Nervenzellen charakterisiert – dabei sind insbesondere Interneuronen des Striatums (sog. „medium spiny neurons“, MSN) von der Neurodegeneration durch mutiertes Huntingtin betroffen [44]. Schon früh wurden deshalb, zunächst in Tiermodellen der Huntington-Erkrankung, Therapiestrategien entworfen, die einen *exogenen Zellersatz* vorsahen. Ziel ist dabei, dass implantierte Zellen sich in die vorhandenen Nervenzellnetzwerke integrieren und synaptische Verbindungen mit den benachbarten Zellen eingehen. Auch ist die Fortentwicklung der stereotaktischen Neurochirurgie notwendig, um die Zielstruktur für die Implantation sicher zu erreichen [25]. Für die Anwendung bei Huntington-Patienten wurde in den ersten Studien humanes fetales Nervengewebe aus dem Ganglienhügel („ganglionic eminence“) in das Striatum der Patienten transplantiert. Dabei

zeigte sich bei einem Teil der Patienten eine Stabilisierung des klinischen Befunds, mit Verbesserung kognitiver Funktionen, und es gelang der indirekte Nachweis (mittels FDG-PET), dass sich das transplantierte Gewebe in die striatalen Netzwerke integriert hatte [6]. Durch die fortschreitende Neurodegeneration war jedoch keine anhaltende Verlangsamung der Progredienz der Erkrankung nachweisbar [5]. Auch zeigte sich eine starke Variabilität hinsichtlich der Anzahl der dauerhaft überlebenden transplantierten Zellen und der Wirkung auf die klinische Symptomatik. Die langfristigen Ergebnisse neuerer Transplantationsstudien bieten ein uneinheitliches Bild: Während die Studie des NEST-UK-Konsortiums nach drei bis zehn Jahren keine funktionellen Effekte der Transplantation nachweisen konnte [7], fand eine italienische Arbeitsgruppe nach 5 bis 21 Jahren eine Linderung der klinischen Symptomatik in transplantierten Huntington-Patienten im Vergleich zur nicht behandelten Vergleichsgruppe [32]. Allerdings waren auch in diesen Studien die Gruppengrößen gering und bewegten sich zwischen fünf und zehn Patienten. Besonders großes Interesse ist hierbei auf die Daten der 2001 gestarteten und deutlich größer angelegten Transplantationsstudie eines europäischen Konsortiums mit insgesamt 80 HD-Patienten gerichtet [4]; hier liegen allerdings noch keine Daten vor. Generell ist fetales humanes Zellmaterial sowohl bezüglich der Standardisierung, aber auch vor dem ethischen Hintergrund des Fetozids problematisch. Aus diesem Grund werden alternative Stammzellpopulationen für zukünftige Behandlungsstrategien evaluiert, die sich unter standardisierten Bedingungen („good manufacturing practice“) expandieren und auch lagern lassen.

Stammzellen zur Zellersatztherapie bei der Huntington-Erkrankung

Generell können diese unterschiedlichen Stammzellen entweder dafür vorgesehen sein, (1) sich im Zielgebiet zu integrieren und degenerierende Neuronen zu ersetzen, oder aber (2) ohne ei-

ne Integration dazu verwendet werden, trophische Faktoren oder andere Moleküle in die nähere Umgebung zu sezernieren, die die verbleibenden Neuronen vor der Degeneration schützen können. Allerdings ist wichtig zu bemerken, dass humane Stammzellen (im Gegensatz zu fetalem Gewebe) bisher nicht in Patienten der Huntington-Erkrankung angewendet worden sind. Es ist jedoch zu erwarten, dass die Ergebnisse der Transplantationsstudien mit fetalem Gewebe sowie die Untersuchungen in Tiermodellen weiterhin wichtige Erkenntnisse liefern, die die Applikation von Stammzellen zur Behandlung der Huntington-Erkrankung auch für klinische Studien an Patienten vorbereiten.

Derzeit werden verschiedene Arten von Stammzellen verwendet, um potenzielle Zellersatztherapien für neurodegenerative Erkrankungen zu entwickeln, darunter embryonale Stammzellen (ESC), induzierte pluripotente Stammzellen (iPSC), fetale neurale Vorläuferzellen, adulte neurale Stammzellen oder auch somatische Stammzellen aus Blut, Knochenmark oder anderen Geweben. Hauptziel ist immer, dass sich aus diesen Stammzellen reproduzierbar jene Zellen generieren lassen, die durch die Erkrankung verloren gehen, im Falle der Huntington-Erkrankung insbesondere striatale MSN. Hierzu werden derzeit in präklinischen Studien verschiedene Protokolle entwickelt [3, 37]. Möglicherweise könnte jedoch auch die zusätzliche Verwendung anderer Neurone oder auch glialer Zellen die Effektivität der Transplantate erhöhen. Die Verwendung aus iPSC oder ESC generierter neuraler Transplantate macht eine Immunsuppression teilweise oder vollständig überflüssig. Zusätzlich existieren Therapieoptionen, bei denen aus Stammzellen erzeugte Vorläuferzellen nach Transplantation neuroprotektive Faktoren sezernieren [31]. Es werden auch Konzepte diskutiert, bei denen die Zelltransplantation mit gentherapeutischen Verfahren kombiniert wird, beispielsweise indem transplantierte mesenchymale Stammzellen RNAi in striatale Zellen transferieren [30].

Die Transplantation wird inzwischen als sicheres und gut standardisiertes Verfahren angesehen [25]; so ist das Risiko intrakranieller Blutungen gering. Generell ist dieses Risiko für Huntington-Patienten in früheren Stadien der Erkrankung günstiger, zudem geht man davon aus, dass diese Patienten auch stärker von den Effekten der transplantierten Zellen profitieren. Ein weiterer Vorteil des Zellersatzes durch Transplantation ist die Tatsache, dass es sich normalerweise um ein einzeitiges Verfahren handelt, bis auf die immunsuppressive Therapie (üblicherweise für ein Jahr) sind möglicherweise keine weiteren medikamentösen Therapien notwendig. Bisher existiert für die Huntington-Erkrankung keine Therapieform, die zu einer Verlangsamung des neurodegenerativen Prozesses führt. Interessanterweise richtet sich die Zelltransplantation insbesondere gegen einen der frühen pathophysiologischen Mechanismen der Erkrankung, nämlich die Dysfunktion und Degeneration von MSN im Striatum. Auch konnten aktuelle Bildgebungsstudien zeigen, dass das Striatum schon sehr früh, also Jahre vor der tatsächlichen klinischen Diagnose, von der Huntington-Erkrankung betroffen ist [41]. Aus diesem Grund stellt das Striatum tatsächlich ein geeignetes Zielgebiet für Zellersatztherapien dar.

Limitationen der Zellersatztherapie bei der Huntington-Erkrankung

Trotz der raschen Weiterentwicklung verschiedener Stammzell-basierter Technologien für die Huntington-Erkrankung bestehen weiterhin einige wichtige Hürden, die noch nicht abschließend überwunden werden konnten. Zum einen beschränken sich die pathophysiologischen Vorgänge dieser Erkrankung keineswegs auf das Striatum, sondern die Neurodegeneration betrifft multiple Systeme. Auch existieren Bedenken, neue Nervenzellen in eine Region zu injizieren, in der unter physiologischen Bedingungen nur in geringem Maße eine Neubildung von Nervenzellen stattfindet, was nahe legt, dass hier keine günstigen Umgebungs-

bedingungen für die Integration neuer Nervenzellen existieren. Weiter ist fraglich, ob sich transplantierte Zellen in der gleichen Weise wie die vorhandenen MSN in die komplexen Netzwerke zwischen Striatum, Kortex und Thalamus im menschlichen Gehirn integrieren können, auch wenn dies in präklinischen Studien an transgenen Mäusen erfolgreich gezeigt wurde [21]. Unklar ist, welche Menge an transplantiertem Material eine optimale Integration im Striatum ermöglicht, ohne dass es zu einem „Überwachsen“ der Transplantate in andere Hirnregionen kommt. Auch entwickelte sich von den transplantierten Zellen in den bisherigen Studien nur ein kleiner Prozentsatz tatsächlich in Zellen, die typische Charakteristika von MSN trugen, auch wenn hier aus iPSC generierte Zellen möglicherweise eine höhere Effektivität zeigen [11]. Auch das Risiko einer Tumorentwicklung aus transplantierten Stammzellen muss beachtet werden. Für langfristige Effekte ist es wichtig zu berücksichtigen, dass sich kürzlich in Post-mortem-Analysen bei Huntington-Patienten in transplantierten neuronalen Zellen Aggregate von mutiertem Huntingtin (mHTT) fanden, was die Theorie einer Übertragung des mHTT auf Nervenzellen, deren Erbgut selbst keine Mutation enthält, unterstützt [10].

Zusammenfassend ist die Translation der präklinischen Daten zur Zelltransplantation von präklinischen Tiermodellen auf Huntington-Patienten noch nicht abschließend gelungen. Dennoch erscheinen die bisherigen Ergebnisse ermutigend genug, Zellersatz als mögliche Behandlungsoption für die Huntington-Erkrankung weiter zu entwickeln. Risiken und Nutzen, die mit verschiedenen Stammzellen verknüpft sind, müssen weiter kritisch abgewogen werden, bevor in größerem Maßstab Stammzelltransplantation bei Huntington-Patienten durchgeführt werden.

Interessenkonflikterklärung

Es bestehen keine Interessenkonflikte.

Molecular and cellular treatment options for Huntington's disease

Current treatment options for Huntington's disease are restricted to the alleviation of symptoms. Nevertheless, international observational studies led to a precise characterization of the disease, in particular in its early phases. Currently, new treatment options are evaluated to influence the pathophysiology and progression of the disease itself. Here, gene therapy and stem cell transplantation represent innovative approaches to develop new treatments for affected patients.

Key words: Huntingtin, transplantation, antisense oligonucleotide, striatum

Literatur

1. Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol* 2011;29:341–5.
2. Aronin N, DiFiglia M. Huntingtin-lowering strategies in Huntington's disease: antisense oligonucleotides, small RNAs, and gene editing. *Mov Disord* 2014;29:1455–61.
3. Aubry L, Bugi A, Lefort N, Rousseau F, et al. Striatal progenitors derived from human ES cells mature into DARPP32 neurons in vitro and in quinolinic acid-lesioned rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:16707–12.
4. Bachoud-Levi A, Bourdet C, Brugieres P, Nguyen JP, et al. Safety and tolerability assessment of intrastriatal neural allografts in five patients with Huntington's disease. *Exp Neurol* 2000;161:194–202.
5. Bachoud-Levi AC, Gaura V, Brugieres P, Lefaucheur JP, et al. Effect of fetal neural transplants in patients with Huntington's disease 6 years after surgery: a long-term follow-up study. *Lancet Neurol* 2006;5:303–9.
6. Bachoud-Levi AC, Remy P, Nguyen JP, Brugieres P, et al. Motor and cognitive improvements in patients with Huntington's disease after neural transplantation. *Lancet* 2000;356:1975–9.
7. Barker RA, Mason SL, Harrower TP, Swain RA, et al. The long-term safety and efficacy of bilateral transplantation of human fetal striatal tissue in patients with mild to moderate Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013;84:657–65.
8. Carroll JB, Warby SC, Southwell AL, Doty CN, et al. Potent and selective antisense oligonucleotides targeting single-nucleotide polymorphisms in the Huntington disease gene/allele-specific silencing of mutant huntingtin. *Mol Ther* 2011;19:2178–85.
9. Cattaneo E, Zuccato C, Tartari M. Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:919–30.
10. Cicchetti F, Lacroix S, Cisbani G, Vallieres N, et al. Mutant huntingtin is present in neuronal grafts in Huntington disease patients. *Ann Neurol* 2014;76:31–42.
11. Delli Carri A, Onorati M, Lelos MJ, Castiglioni V, et al. Developmentally coordinated extrinsic signals drive human pluripotent stem cell differentiation toward authentic DARPP-

- 32+ medium-sized spiny neurons. *Development* 2013;140:301–12.
12. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 1997;277:1990–3.
 13. DiFiglia M, Sena-Esteves M, Chase K, Sapp E, et al. Therapeutic silencing of mutant huntingtin with siRNA attenuates striatal and cortical neuropathology and behavioral deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17204–9.
 14. Dragatsis I, Levine MS, Zeitlin S. Inactivation of Hdh in the brain and testis results in progressive neurodegeneration and sterility in mice. *Nat Genet* 2000;26:300–6.
 15. Gagnon KT, Pendergraff HM, Deleavey GF, Swayze EE, et al. Allele-selective inhibition of mutant huntingtin expression with antisense oligonucleotides targeting the expanded CAG repeat. *Biochemistry* 2010;49:10166–78.
 16. Godin JD, Colombo K, Molina-Calavita M, Keryer G, et al. Huntingtin is required for mitotic spindle orientation and mammalian neurogenesis. *Neuron* 2010;67:392–406.
 17. Grondin R, Kaytor MD, Ai Y, Nelson PT, et al. Six-month partial suppression of Huntingtin is well tolerated in the adult rhesus striatum. *Brain* 2012;135(Pt 4):1197–209.
 18. Harper SQ, Staber PD, He X, Eliason SL, et al. RNA interference improves motor and neuropathological abnormalities in a Huntington's disease mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:5820–5.
 19. Hu J, Liu J, Corey DR. Allele-selective inhibition of huntingtin expression by switching to an miRNA-like RNAi mechanism. *Chem Biol* 2010;17:1183–8.
 20. Huntington Study Group. Tetrabenazine as antichorea therapy in Huntington disease: a randomized controlled trial. *Neurology* 2006;66:366–72.
 21. Hurelbrink CB, Armstrong RJ, Dunnett SB, Rosser AE, et al. Neural cells from primary human striatal xenografts migrate extensively in the adult rat CNS. *Eur J Neurosci* 2002;15:1255–66.
 22. Kordasiewicz HB, Stanek LM, Wancewicz EV, Mazur C, et al. Sustained therapeutic reversal of Huntington's disease by transient repression of huntingtin synthesis. *Neuron* 2012;74:1031–44.
 23. Li H, Haurigot V, Doyon Y, Li T, et al. In vivo genome editing restores haemostasis in a mouse model of haemophilia. *Nature* 2011;475:217–21.
 24. Lima WF, Prakash TP, Murray HM, Kinberger GA, et al. Single-stranded siRNAs activate RNAi in animals. *Cell* 2012;150:883–94.
 25. Lopez WO, Nikkha G, Schultke E, Furlanetti L, et al. Stereotactic planning software for human neurotransplantation: suitability in 22 surgical cases of Huntington's disease. *Restor Neurol Neurosci* 2014;32:259–68.
 26. McBride JL, Pitzer MR, Boudreau RL, Dufour B, et al. Preclinical safety of RNAi-mediated HTT suppression in the rhesus macaque as a potential therapy for Huntington's disease. *Mol Ther* 2011;19:2152–62.
 27. Miller TM, Pestronk A, David W, Rothstein J, et al. An antisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis: a phase 1, randomised, first-in-man study. *Lancet Neurol* 2013;12:435–42.
 28. Nasir J, Floresco SB, O'Kusky JR, Diwert VM, et al. Targeted disruption of the Huntington's disease gene results in embryonic lethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes. *Cell* 1995;81:811–23.
 29. Niewoehner J, Bohrmann B, Collin L, Ulrich E, et al. Increased brain penetration and potency of a therapeutic antibody using a monovalent molecular shuttle. *Neuron* 2014;81:49–60.
 30. Olson SD, Kambal A, Pollock K, Mitchell GM, et al. Examination of mesenchymal stem cell-mediated RNAi transfer to Huntington's disease affected neuronal cells for reduction of huntingtin. *Mol Cell Neurosci* 2012;49:271–81.
 31. Olson SD, Pollock K, Kambal A, Cary W, et al. Genetically engineered mesenchymal stem cells as a proposed therapeutic for Huntington's disease. *Mol Neurobiol* 2012;45:87–98.
 32. Paganini M, Biggeri A, Romoli AM, Mechi C, et al. Fetal striatal grafting slows motor and cognitive decline of Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;85:974–81.
 33. Papoutsi M, Labuschagne I, Tabrizi SJ, Stout JC. The cognitive burden in Huntington's disease: pathology, phenotype, and mechanisms of compensation. *Mov Disord* 2014;29:673–83.
 34. Papworth M, Kolasinska P, Minczuk M. Designer zinc-finger proteins and their applications. *Gene* 2006;366:27–38.
 35. Paradisi I, Hernandez A, Arias S. Huntington disease mutation in Venezuela: age of onset, haplotype analyses and geographic aggregation. *J Hum Genet* 2008;53:127–35.
 36. Pfister EL, Kennington L, Straubhaar J, Wagh S, et al. Five siRNAs targeting three SNPs may provide therapy for three-quarters of Huntington's disease patients. *Curr Biol* 2009;19:774–8.
 37. Precious SV, Rosser AE. Producing striatal phenotypes for transplantation in Huntington's disease. *Exp Biol Med* 2012;237:343–51.
 38. Pringsheim T, Wiltshire K, Day L, Dykeman J, et al. The incidence and prevalence of Huntington's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 2012;27:1083–91.
 39. Stanek LM, Sardi SP, Mastis B, Richards AR, et al. Silencing mutant huntingtin by adeno-associated virus-mediated RNA interference ameliorates disease manifestations in the YAC128 mouse model of Huntington's disease. *Hum Gen Ther* 2014;25:461–74.
 40. Stiles DK, Zhang Z, Ge P, Nelson B, et al. Widespread suppression of huntingtin with convection-enhanced delivery of siRNA. *Exp Neurol* 2012;233:463–71.
 41. Tabrizi SJ, Scahill RI, Owen G, Durr A, et al. Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 36-month observational data. *Lancet Neurol* 2013;12:637–49.
 42. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993;72:971–83.
 43. van Duijn E, Craufurd D, Hubers AA, Giltaij EJ, et al. Neuropsychiatric symptoms in a European Huntington's disease cohort (REGISTRY). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;85:1411–8.
 44. Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, et al. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1985;44:559–77.
 45. Wang N, Gray M, Lu XH, Cattle JP, et al. Neuronal targets for reducing mutant huntingtin expression to ameliorate disease in a mouse model of Huntington's disease. *Nat Med* 2014;20:536–41.
 46. Warby SC, Visscher H, Collins JA, Doty CN, et al. HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Hum Genet* 2011;19:561–6.
 47. Yamamoto A, Lucas JJ, Hen R. Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* 2000;101:57–66.
 48. Yu D, Pendergraff H, Liu J, Kordasiewicz HB, et al. Single-stranded RNAs use RNAi to potently and allele-selectively inhibit mutant huntingtin expression. *Cell* 2012;150:895–908.