

# Zukunftsausblick:

Genreparatur und individuelle Stammzellmodelle -  
eine Chance auch für ARVC?

**Brenda Gerull**

Deutsches Zentrum für Herzinsuffizienz  
Medizinische Klinik I, Universitätsklinikum Würzburg

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

## Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy

Brenda Gerull<sup>1,2,7</sup>, Arnd Heuser<sup>1,2,7</sup>, Thomas Wichter<sup>3</sup>,  
Matthias Paul<sup>3</sup>, Craig T Basson<sup>4</sup>, Deborah A McDermott<sup>4</sup>,  
Bruce B Lerman<sup>4</sup>, Steve M Markowitz<sup>4</sup>, Patrick T Ellinor<sup>5</sup>,  
Calum A MacRae<sup>5</sup>, Stefan Peters<sup>6</sup>, Katja S Grossmann<sup>1</sup>,  
Beate Michely<sup>1,2</sup>, Sabine Sasse-Klaassen<sup>1</sup>,  
Walter Birchmeier<sup>1</sup>, Rainer Dietz<sup>2</sup>, Günter Breithardt<sup>3</sup>,  
Eric Schulze-Bahr<sup>3</sup> & Ludwig Thierfelder<sup>1,2</sup>

Calgary 2009 – 2016



# Arrhythmogene Kardiomyopathie bei den Hutterern

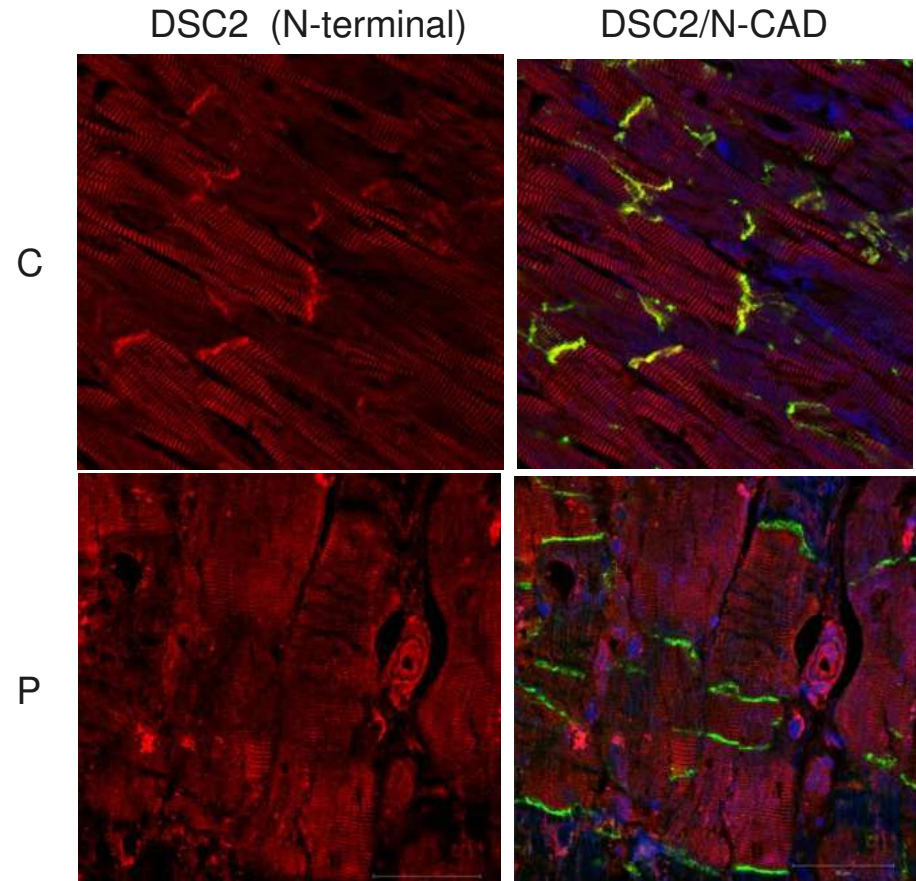


# Rezessive Form der A(R)VC

## Homozygote Mutationsträger



## Vollständiger Verlust von Desmocollin 2 im Herzen:



# Seit 2016: Deutsches Zentrum für Herzinsuffizienz

Integriertes Forschungs- und Behandlungszentrum



Prävention der Herzinsuffizienz und ihrer Komplikationen

# „Bench to Bedside“



Gene Function Evaluation in Model Systems

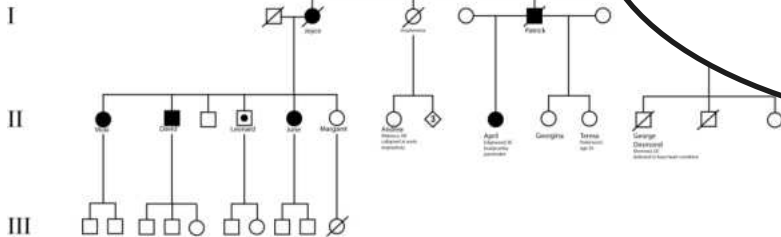


Genetik und Genomik

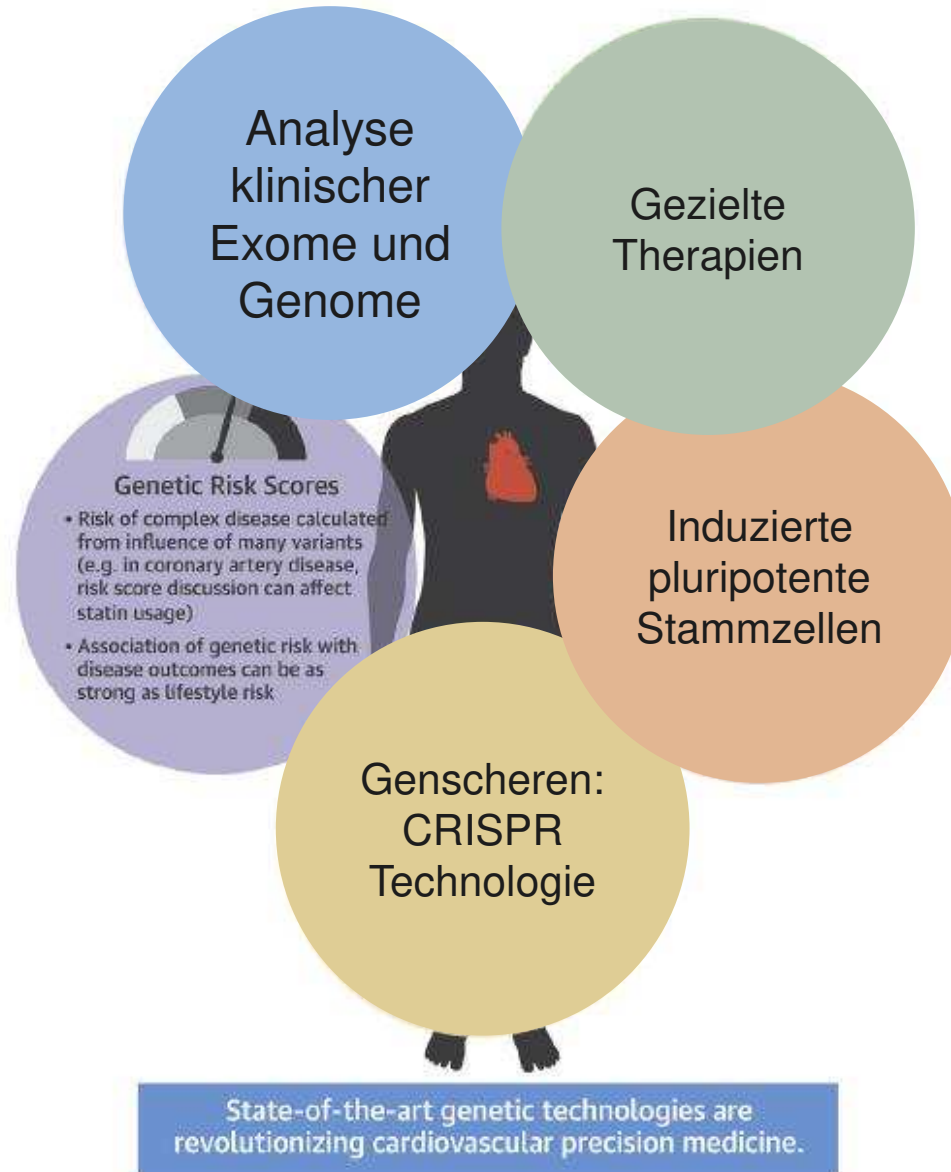
Mechanistische Studien im Labor

Zentrum für Genetische Herzerkrankungen

Progressive Familial Heart Block



# “Precision” Medizin: Entwicklungen im kardiovaskulären Bereich



# Exom Sequenzierung in der klinischen Routine – Mehrwert Genomsequenzierung ?

Analyse  
Klinischer  
Exome und  
Genome

## ■ Exom

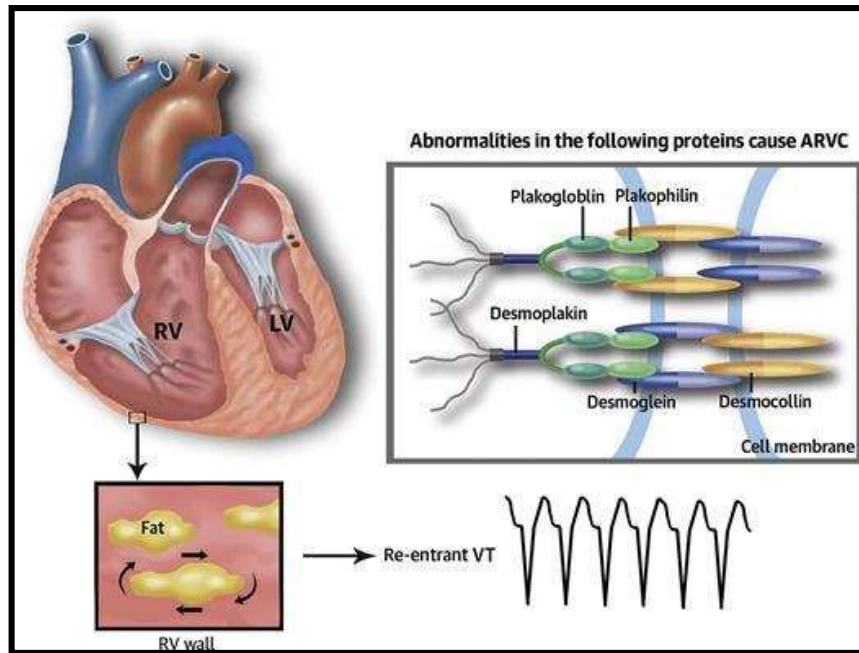


- 1.5% des Genoms, ca. 20.000 Gene (50 Millionen bp)
- Etablierte, kostengünstige Technologie
- "Routine" in der genetischen Diagnostik auch im Rahmen der Patientenversorgung
- Detektionsrate bei ARVC: 50% der Fälle

## ■ Genom

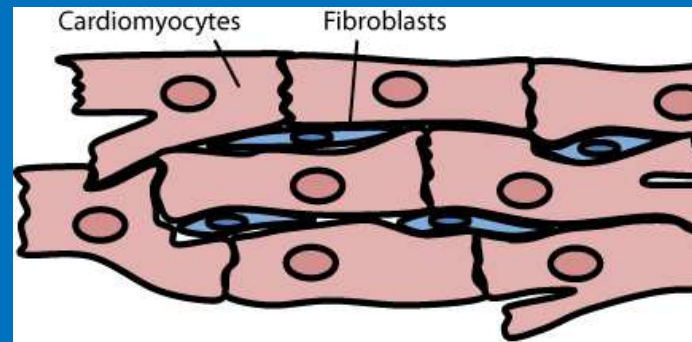
- 3 Milliarden bp
- umfasst kodierende und nicht kodierende (regulatorische) DNA
- kann mit anderen Analysemethoden (RNA; Epigenom) kombiniert werden
- besser vergleichbare Datensätze:  
„personalisiertes Genom“ als einmaliger Datensatz
- Chance bei ARVC:  
Schließen der „genetischen Lücke“

# Wie führt ein verändertes Gen zur Erkrankung?

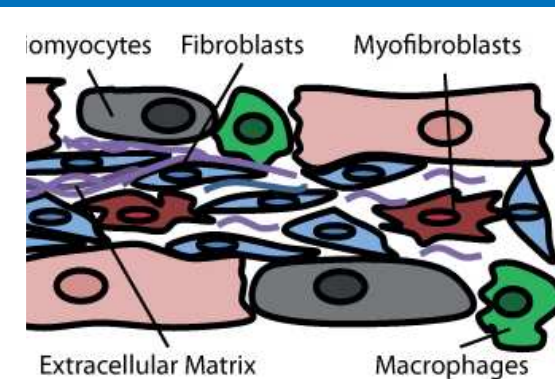


Die Erforschung von Krankheitsmechanismen erfordert Modellsysteme:

- Zellmodelle
- Gewebemodelle
- Modellorganismen



**Degeneration**  
**Entzündung**  
**Transdifferenzierung**  
**Metabolische**  
**Veränderungen**



# Patientenspezifische Modellsysteme

- Einzigartiges Modellsystem zur Untersuchung genetischer Erkrankungen
- Technik ermöglicht aus einer Hautzelle eine Herzmuskelzelle bei Beibehaltung der genetischen Information herzustellen
- Anwendungen in der Forschung:
  - Erforschung von Krankheitsmechanismen auf zellulärer Ebene
  - Test von Medikamenten im Hochdurchsatzverfahren
  - Test von individuellen Therapien

Induzierte pluripotente Stammzellen

## Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors

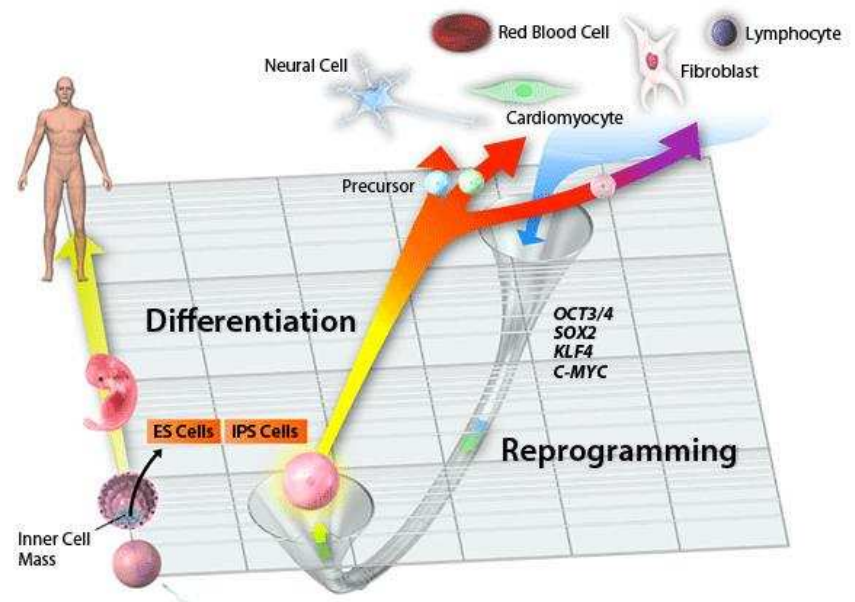
Kazutoshi Takahashi<sup>1</sup> and Shinya Yamanaka<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

<sup>2</sup>CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan

\*Contact: yamanaka@frontier.kyoto-u.ac.jp

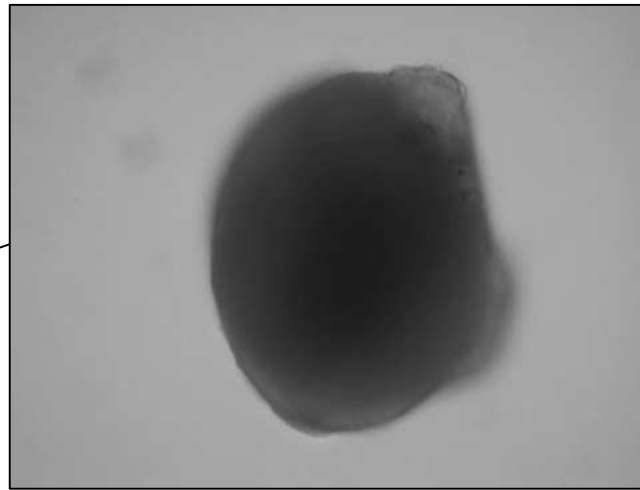
DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024



# Individuelle Herzmuskelzellen aus einer Hautbiopsie

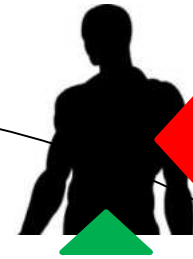


Herzmuskelzellen



3D – "Miniherzen"

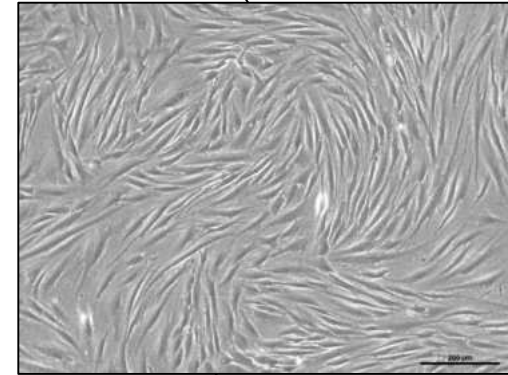
Schlagende Zellverbände



Hautbiopsie

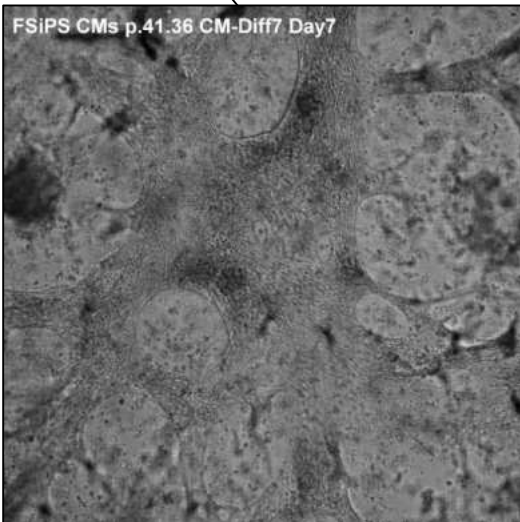
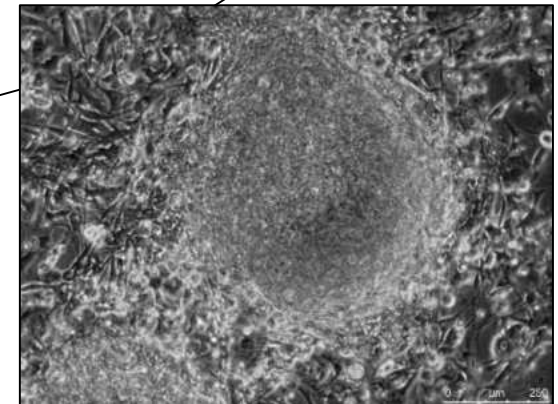
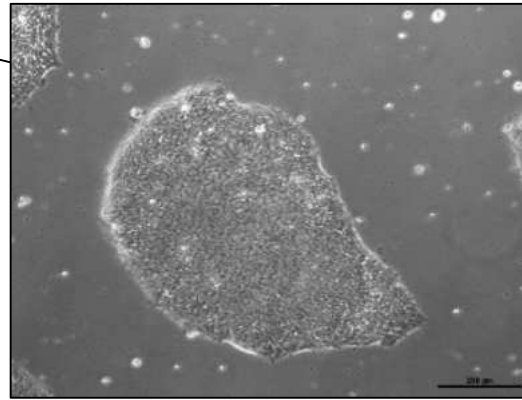


Fibroblasten



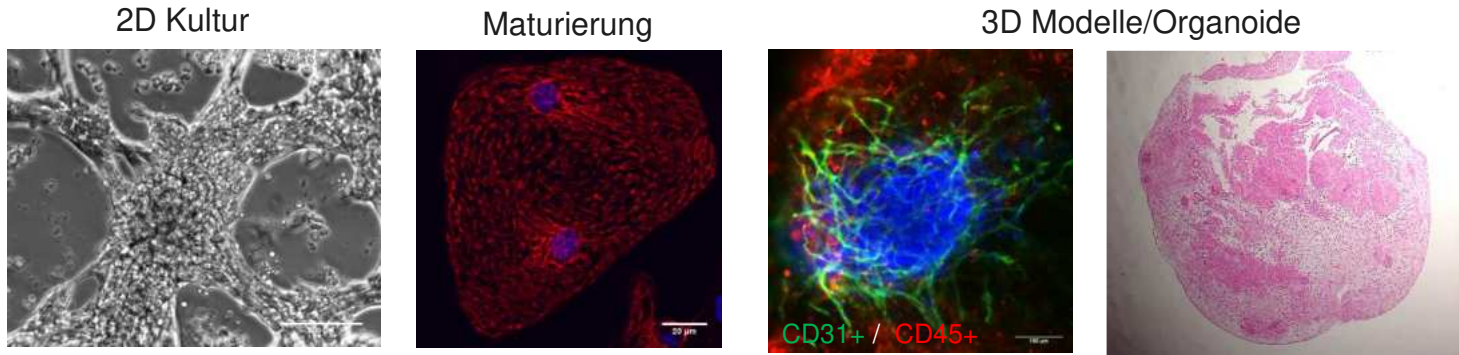
Rückprogrammierung

Humane pluripotente Stammzellen

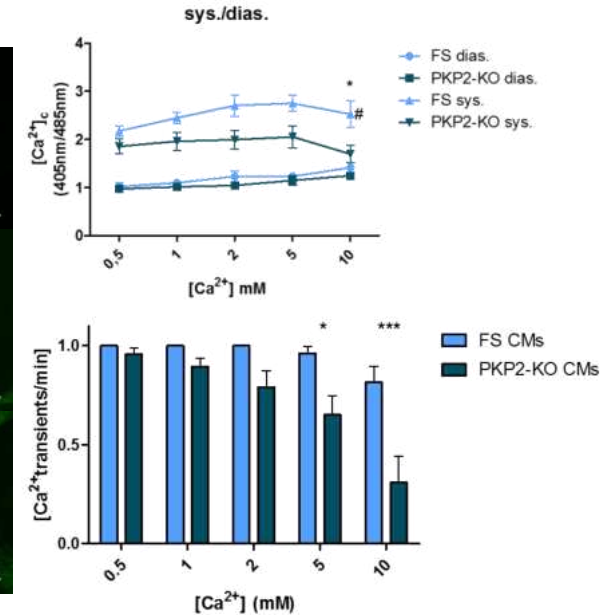
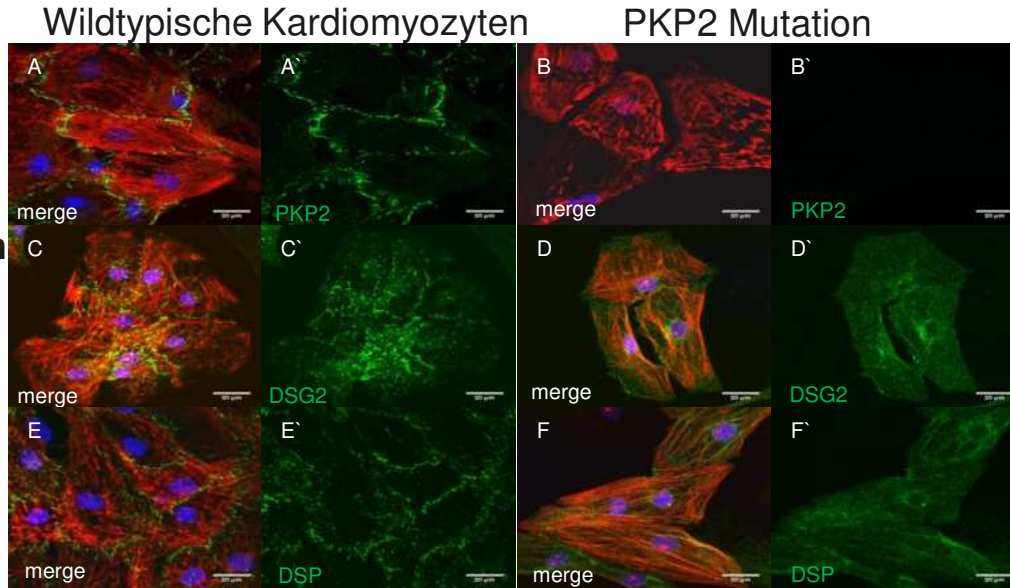


# Modelle von Patienten mit desmosomalen Mutationen

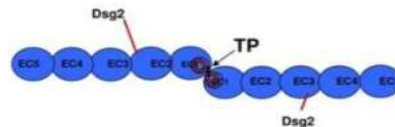
Modell-  
entwicklung



Mechanismen  
Funktion



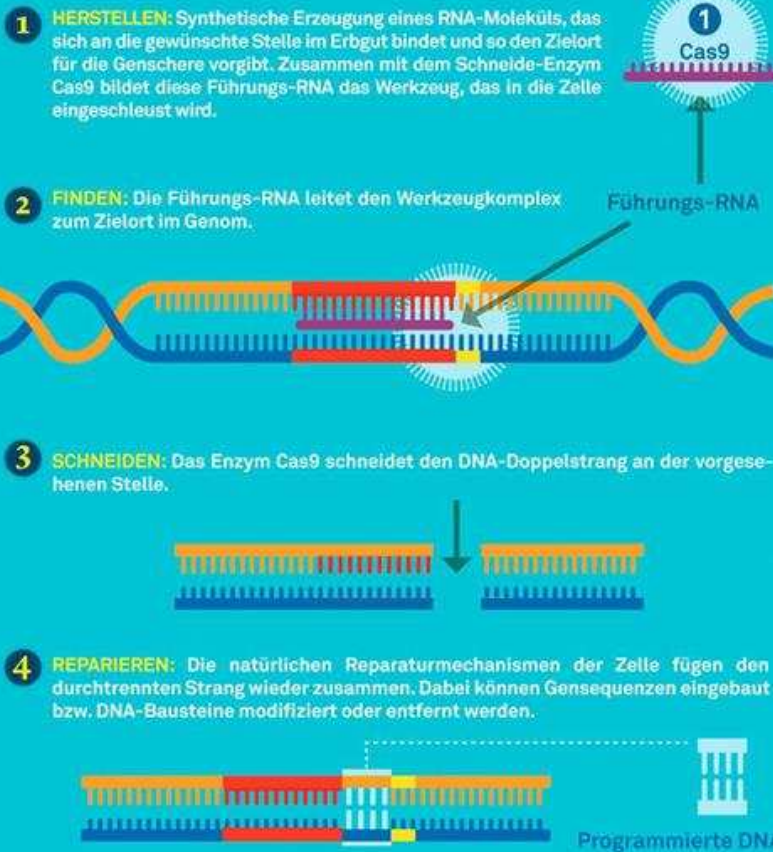
Therapie



# CRISPR/Cas9 – Können wir Erbkrankheiten aus dem Körper schneiden?

Genscheren:  
CRISPR  
Technologie

## So funktioniert CRISPR/Cas9

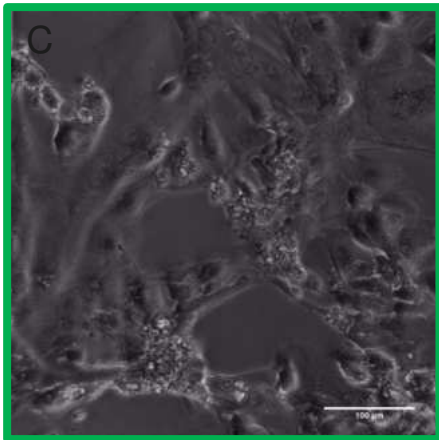
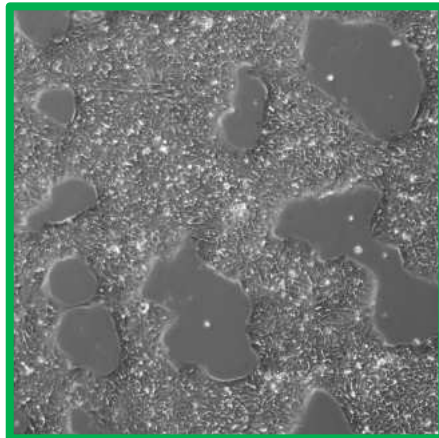


- Methode erlaubt **zielgenaue** und fehlerfreie **Veränderung** des Erbguts
- Ermöglicht das **Entfernen** und **Einfügen von DNA Bausteinen**
- Schwieriger sind punktgenaue **Mutationen einzubauen oder zu reparieren**

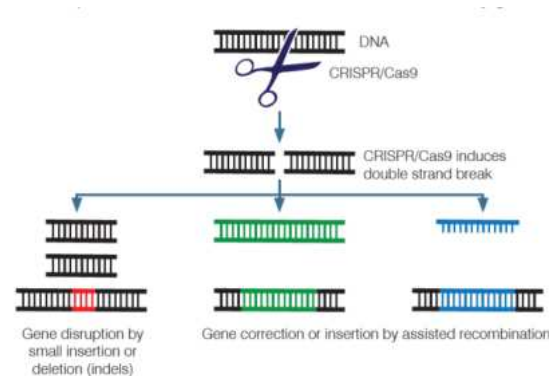
# CRISPR/Cas9 in humanen iPSCs

Wildtyp iPSCs

Reparierte iPSCs

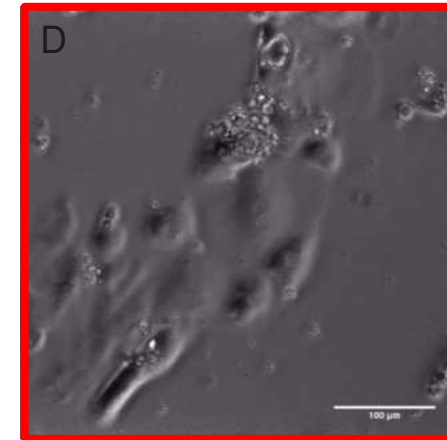
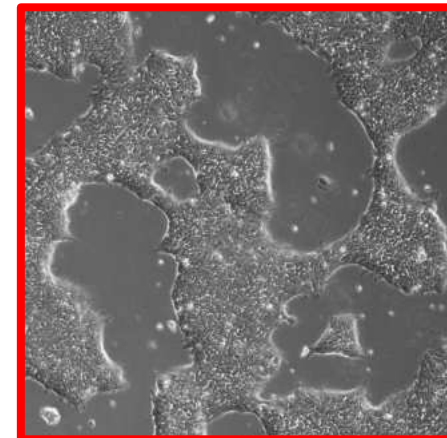


Genome editing:  
CRISPR/Cas9



Mutierte iPSCs

Patienten iPSCs




Differenzierung in  
Kardiomyozyten

Vergleich der Phänotypen

## ...klingt vielversprechend und nun?

- Prinzipiell „lösbar“ Hürden
  - Zellen die sich nicht teilen (z.B. Herzmuskel, Nervenzellen), ineffektive Reparatur nur weniger Zellen
  - Unerwünschte Brüche an anderen Stellen im Erbgut („off target“)
  - Sichere und effektive Transportformen (z.B. Viren, Nanopartikel) mit Gewebespezifität
  - Immunabwehr gegen Cas9
- Anwendungen bei Duchenne Muskeldystrophie
  - X-chrom. führt in 98% zum vollständigen Funktionsverlust von Dystrophin
  - CRISPR/Cas9 Korrektur erfolgt über „exon skipping, base editing“
  - getestet in iPSCs, Patientenmuskelzelllinien, Mausmodellen und anderen Tiermodellen (*in vivo* durch AAV9-Viren appliziert)
  - Symptome konnten gemildert werden
  - Humanisiertes DMD Mausmodell: 83-86% Korrekturrate (modifiziertes Cas9 Enzym)

# Spezifische Therapien für ARVC am Horizont?



Gezielte  
Therapien

- Herausforderungen bei der Genreparatur
  - Kein einheitlicher Mechanismus („Funktionsverlust“)
  - Viele unterschiedliche „private“ Mutationen
  - ?Möglichkeit des Ausgleichs von Funktionsverlust über die Regulierung anderer Isoformen/Wildtypallels
- Ansätze auf molekularen Mechanismen basierend
  - GSK3 $\beta$  inhibitor (SB216763) aktiviert Wnt Signalweg und erhöht Expression von DLG-1 welches die Lokalisation vom kardialen Natriumkanal Nav1.5 und Connexin an den Zell-Zellkontakten erhält (in verschiedenen Modellsystemen getestet)
  - Neue Therapien im Test unter Nutzung der iPS-Zellmodelle

# Vielen Dank!



## Zentrum für Genetische Herz- und Gefäßerkrankungen

Forschung und Behandlung  
im multiprofessionellen  
Netzwerk



### Vernetzte Versorgung

Für die gezielte Früherkennung, Diagnostik und Therapie erblich bedingter Herzerkrankungen wie Kardiomyopathien und familiäre Arrhythmien sowie von bestimmten Gefäßerkrankungen steht den Patientinnen und Patienten eine Spezialambulanz zur Verfügung.

#### Hier bieten wir:

- ▶ Beratung, ob eine familiäre Erkrankung vorliegt
- ▶ fachspezifische genetische Beratung nach dem Gendiagnostikgesetz
- ▶ Auswahl der genetischen Diagnostik und molekular-genetischen Analysen
- ▶ Interpretation der Ergebnisse des genetischen Tests
- ▶ Beratung und Empfehlung für klinisches und genetisches Screening von Familienangehörigen
- ▶ Betreuung und regelmäßige kardiologische Screening-Untersuchungen der Betroffenen sowie deren Familienmitglieder, die befürchten oder bereits wissen, dass sie ebenfalls betroffen sind
- ▶ optimale und schnelle Lenkung der Erkrankten zur besten Spezialistin oder zum besten Spezialisten für die jeweilige Erkrankung innerhalb der beteiligten Einrichtungen und Ambulanzen
- ▶ Vermittlung von psychologischer Unterstützung sofern Bedarf besteht

### Schwerpunkterkrankungen

#### Kardiomyopathien

- ▶ hypertrophe Kardiomyopathie
- ▶ arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie
- ▶ dilatative Kardiomyopathie (idiopathisch, familiär)
- ▶ linksventrikuläre Noncompaction-Kardiomyopathie
- ▶ syndromale Kardiomyopathieformen
- ▶ Herzbeteiligung im Rahmen von Muskelerkrankungen oder neurologischen Erkrankungen
- ▶ seltene andere Kardiomyopathien: restriktive Kardiomyopathie, Peripartum-Kardiomyopathie

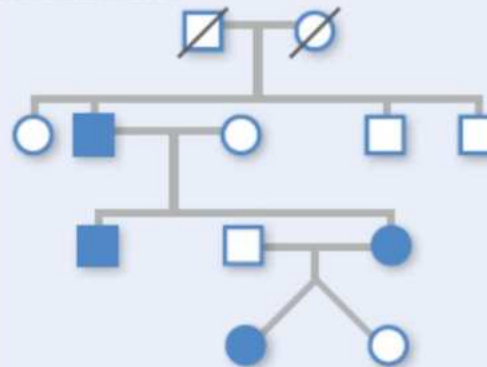
#### Familiäre Arrhythmien

- ▶ klassische genetische Arrhythmiesyndrome: Langes-QT-Syndrom, Kurzes-QT-Syndrom, catecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardien, Brugada-Syndrom
- ▶ idiopathisches Kammerflimmern ohne strukturelle Herzerkrankung
- ▶ idiopathisches Vorhofflimmern (mindestens zwei Betroffene)
- ▶ idiopathische Sinusknotenerkrankung
- ▶ plötzlicher Herztod ohne strukturelle Herzerkrankung bei jüngeren Erwachsenen (SUDS)

#### Gefäßerkrankungen

- ▶ Aortopathien (Erkrankungen der Aorta)

### Familienstammbaum



### Translationale Forschung

Parallel zur Diagnostik und Behandlung erforschen wir die Ursachen und Krankheitsmechanismen genetisch bedingter Herz- und Gefäßerkrankungen in einem translationalen Ansatz. Das heißt, dass Forschungsergebnisse möglichst schnell in die klinische Anwendung gebracht werden sollen – von der Laborbank zum Krankenbett und zurück. So wird zum Beispiel untersucht, auf welchen Wegen genetische Veränderungen zu einer Herzerkrankung führen, mit dem Ziel, spezifische Therapien zu entwickeln.

**Wir führen auch wissenschaftliche und klinische Studien durch. Bitte sprechen Sie uns an!**