

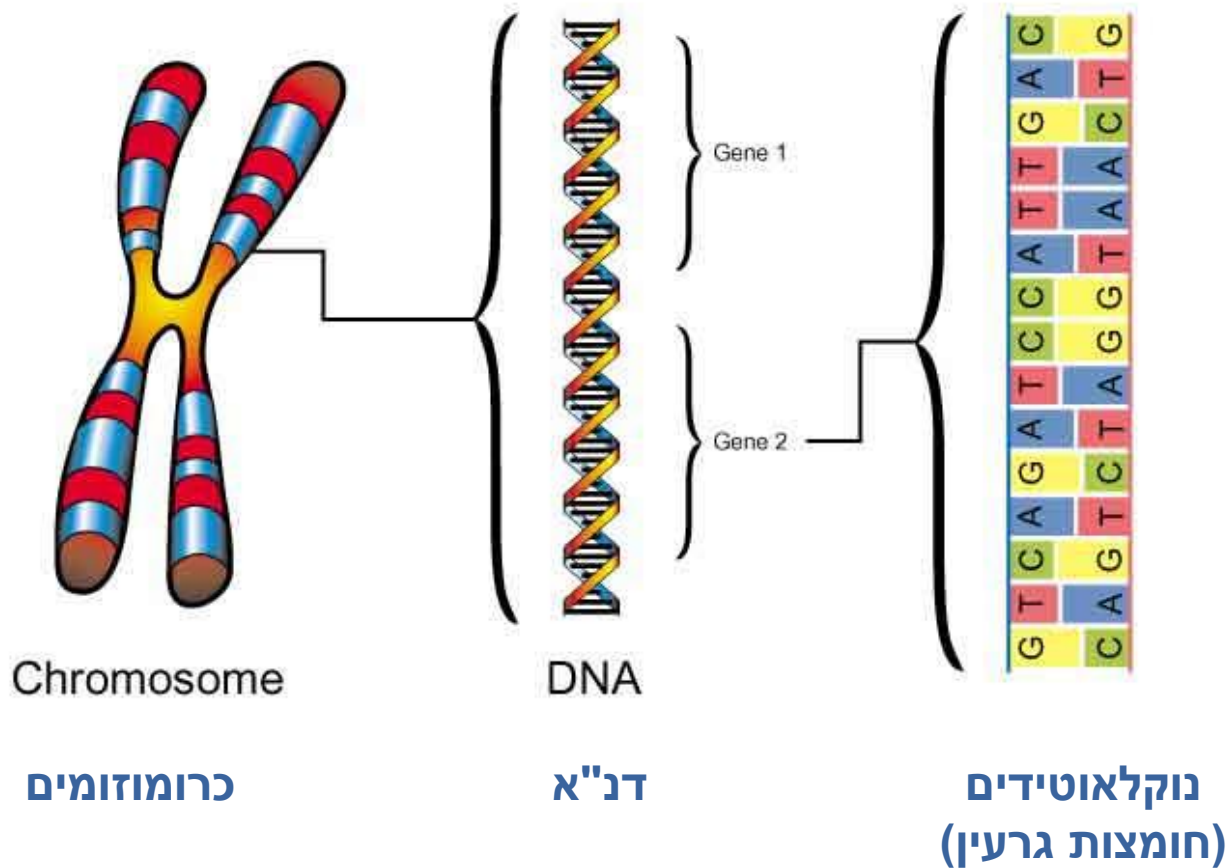
סקירת מחקרים, טיפולים עתידיים ומדדי הערכה בתסמונת אנגלמן

ד"ר גלי חבצלת-היימר,
מנהלת מרפאת האנגלמן,
היחידה לנורולוגיה של הילד,
בית החולים ספרא לילדים,
המרכז הרפואי המשולב שיבא

כנס משפחות תסמונת אנגלמן
המרכז הרפואי המשולב שיבא,

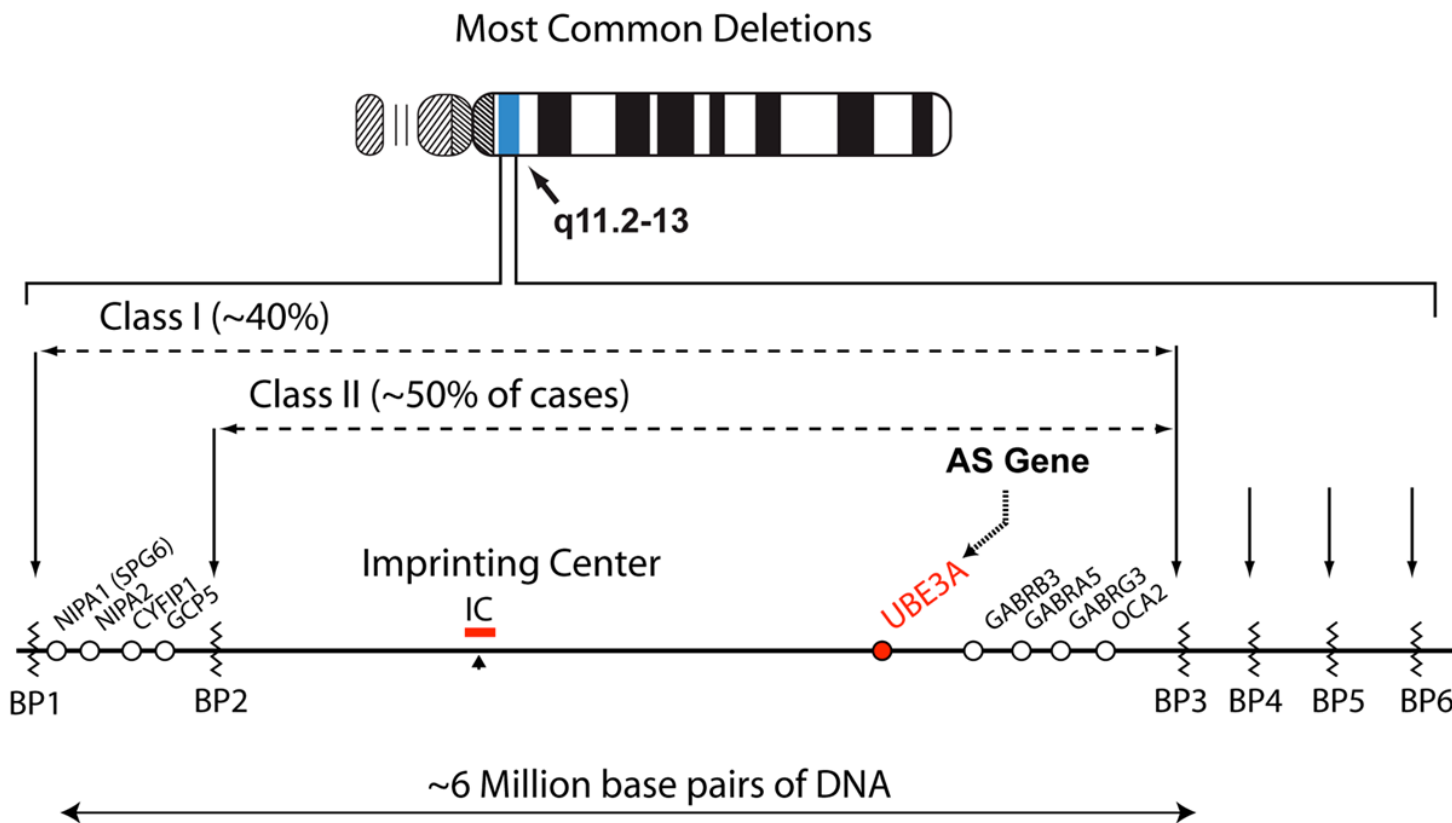
29/11/2018

הבסיס הגנטי בתסמונת אנגלמן - תזכורת



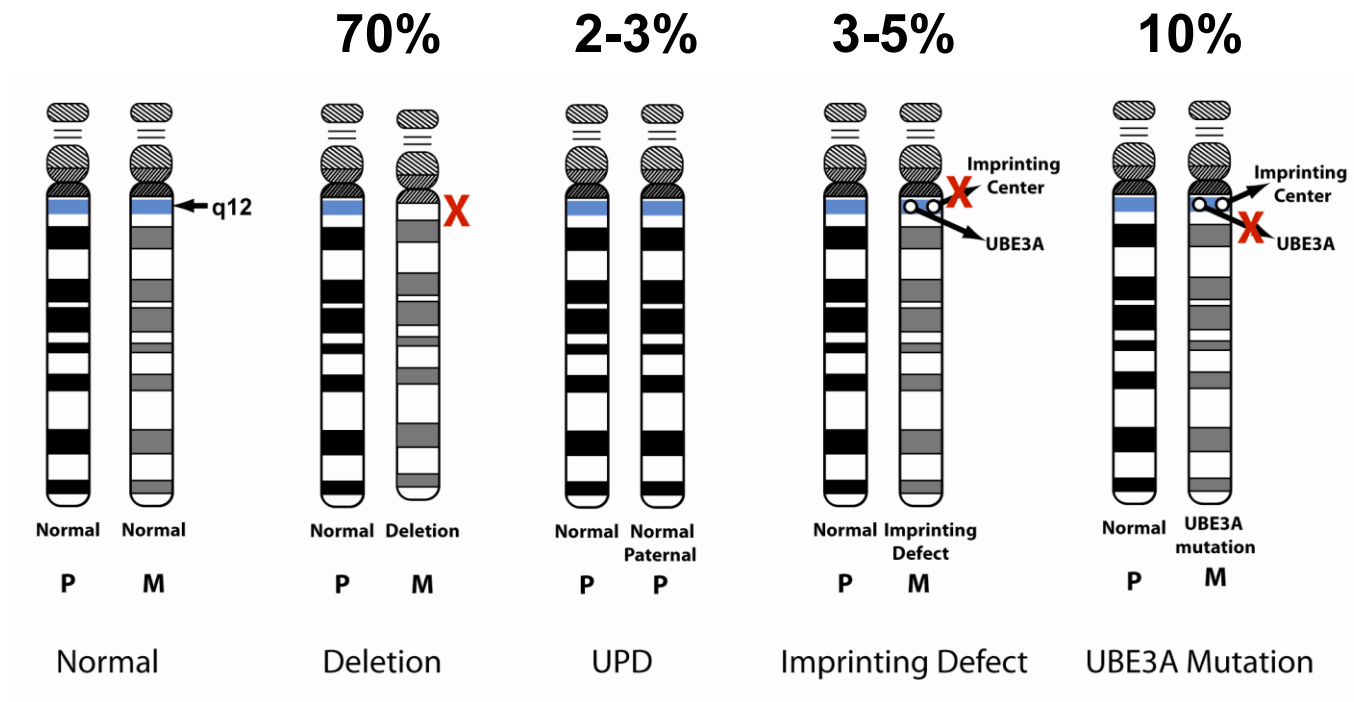
הבסיס הגנטי בתסמונת אנגלמן - המשך

החסר הגנטי בתסמונת אנגלמן – נמצא על כרומוזום 15 האימהי



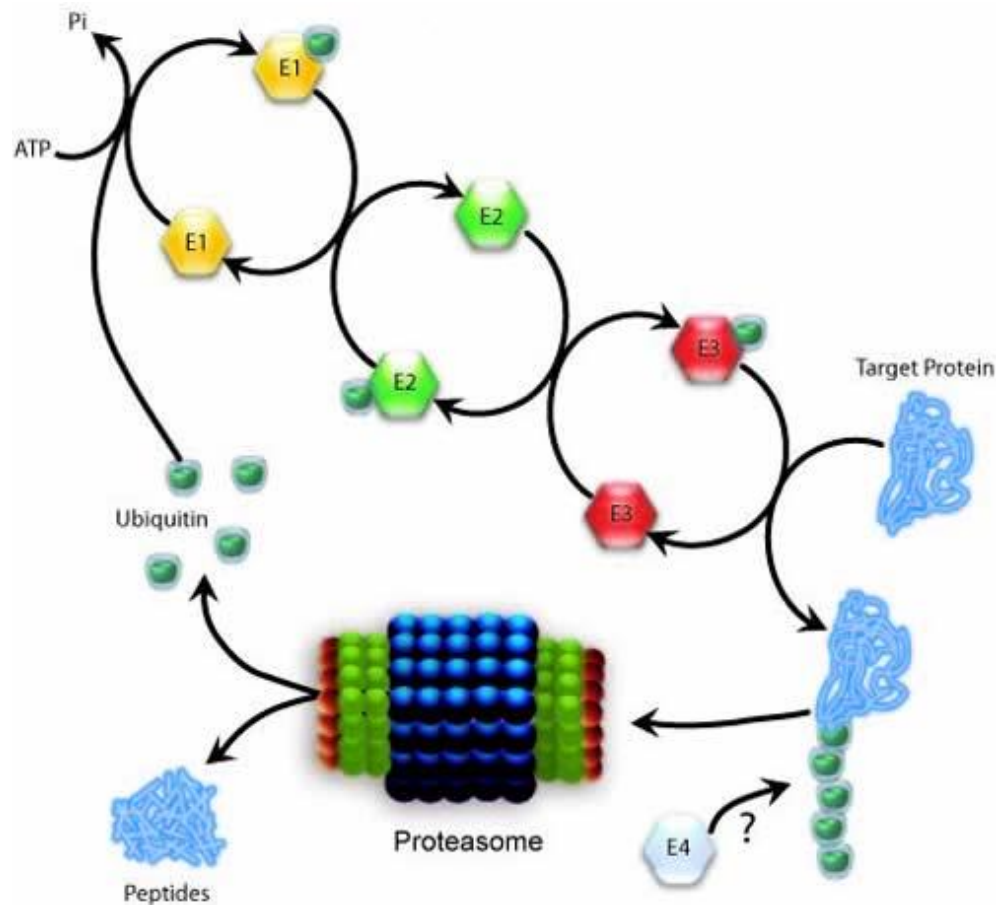
הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך

בכל המנגנונים הגנטיים העותק האבהי של UBE3A שמור אך מושחק

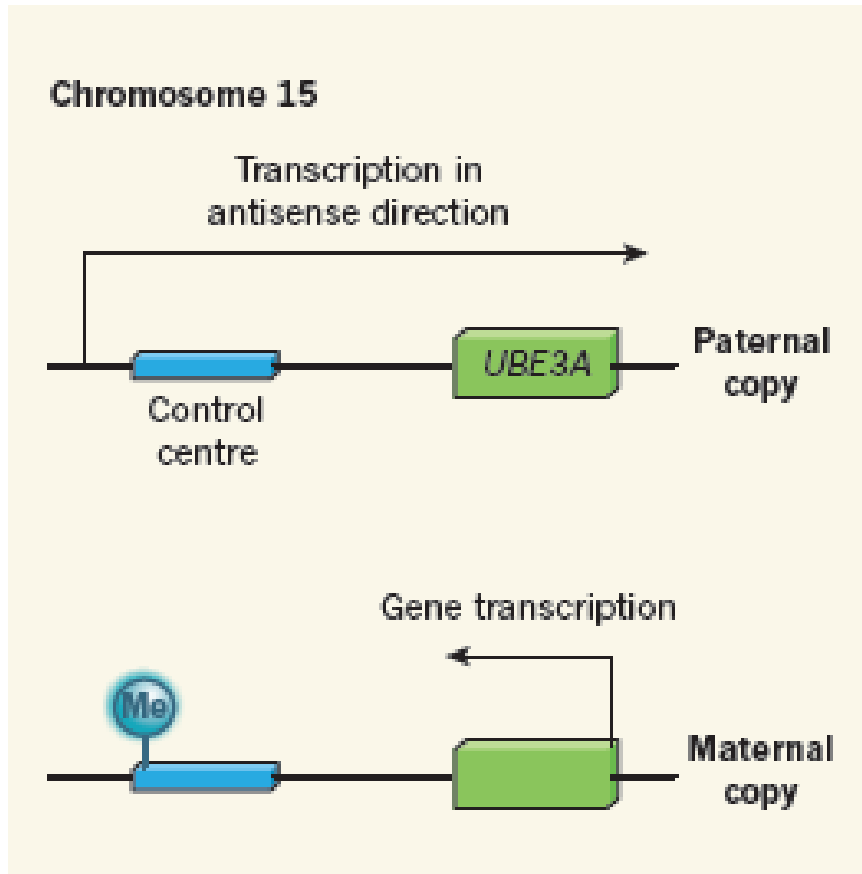


הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך

UBE3A אחראי על סימון חלבונים המיועדים לפירוק



הבסיס הגנטי לתסמונת אנגלמן - המשך



ההשתקה של העותק
האבהי של הגן UBE3A
מתבצעת ע"י antisense



אסטרטגיות לטיפול מוכוונים פוטנציאליים

❖ ביטול ההשתקה הטבעית של הגן האבהי:

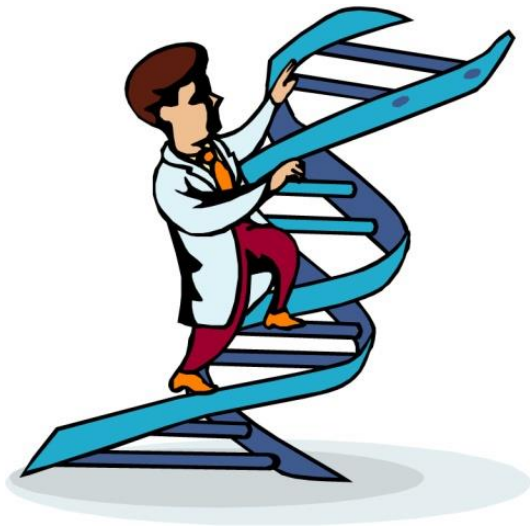
- גישת מעכבי הטופואיזומרז

- גישת ה-Antisense oligonucleotides

- גישת הנדסת חלבון רקומביננטי

❖ החדרת עותק תקין של UBE3A – עם AAV וקטור

❖ התערבות במסלול בו פועל ה-UBE3A



גישת מעכבי הטופואיזומרז 1

LETTER

doi:10.1038/nature10726

Topoisomerase inhibitors unsilence the dormant allele of *Ube3a* in neurons

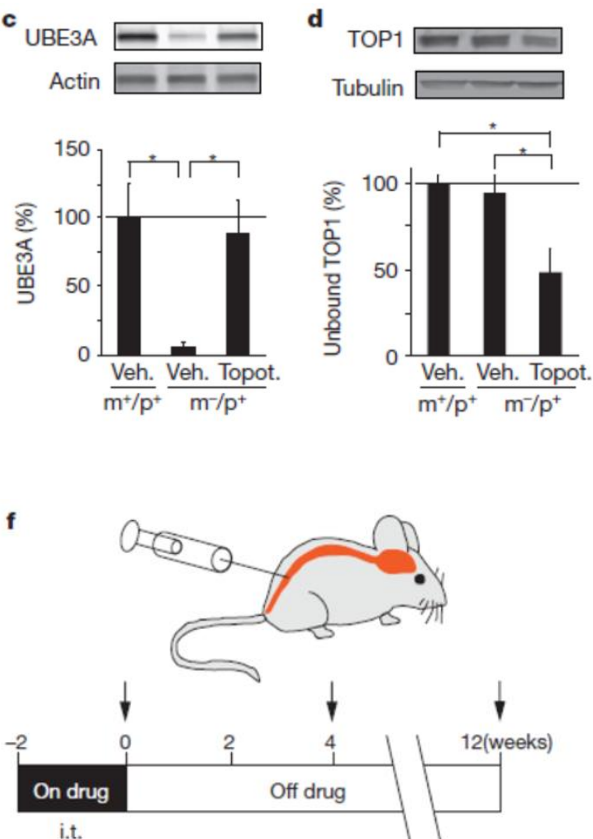
Hsien-Sung Huang^{1*}, John A. Allen^{2*}, Angela M. Mabb¹, Ian F. King¹, Jayalakshmi Miriyala¹, Bonnie Taylor-Blake¹, Noah Sciaky², J. Walter Dutton Jr¹, Hyeong-Min Lee², Xin Chen³, Jian Jin³, Arlene S. Bridges⁴, Mark J. Zylka^{1,5,6}, Bryan L. Roth^{2,5,6,7,8} & Benjamin D. Philpot^{1,5,6}



Prof. Benjamin Philpot and Dr. Marc Zylka, North Carolina University



מחקר ה- Topotecan - המשך

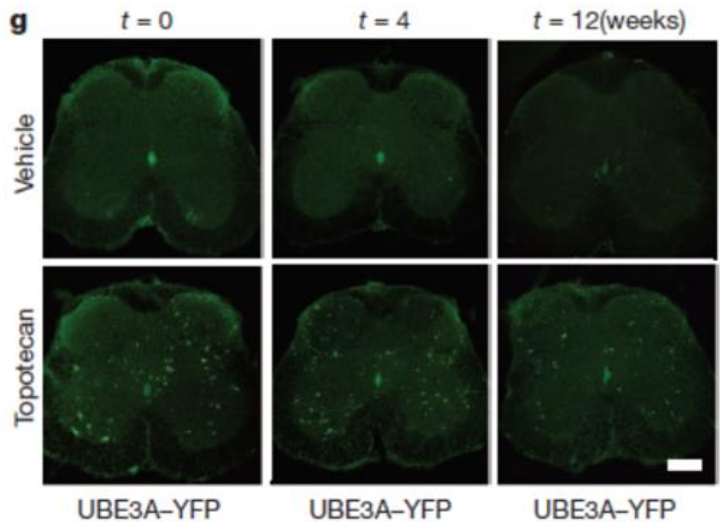


❖ סרקו מעל 2300 חומרים על תרביות של תאי עצב מעכבר וזיהו כי חומרים מקבוצת "מעכבי טופואיזומרז" מבטלים את השתקת האלל האבהי דרך דיכוי ייצור ה- antisense

❖ בהמשך הדגינו כי הזרקות חוזרות של Topotecan לעכברי אנגלמן ישירות למח או לנוזל השדרה העלתה את ביטוי ה- UBE3A האבהי

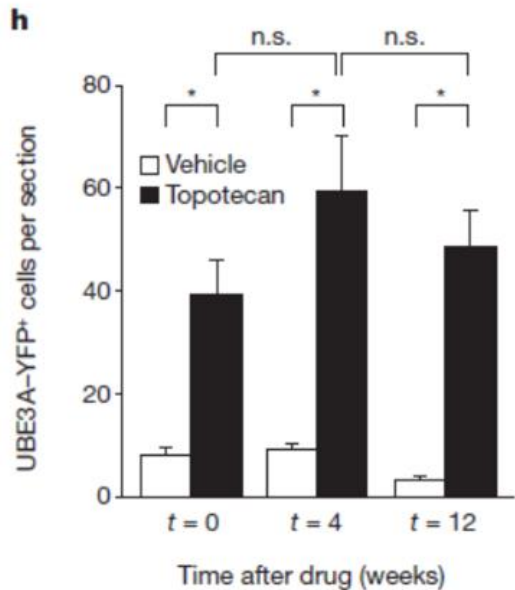
❖ האנזים האבהי שהתבטא היה בעל פעילות תקינה

מחקר ה- Topotecan - המשך



❖ ההשפעה נותרה עד 12 שבועות (ובהמשך הודגם שעד < שנה) מסיום הטיפול ב- Topotecan

❖ השפעת ה- Topotecan נבדקה על תאי עצב שגודלו מחולים (IPS) ונמצאה דומה לזו שהייתה בעכברים



❖ נבדקו 49 גנים נוספים הפועלים במנגנון ההחתמה ורק ה- UBE3A הושפע מה- Topotecan

מחקר ה- Topotecan - חסרונות

❖ רעילות – מדובר בכימותרפיה עם ת.ל כגון דיכוי פעילות סינפטית

❖ חדירות נמוכה של מחסום הדם-מח (BBB) ולכן ניתן ישירות

לנוזל ה- CSF בזריקות לעמוד השדרה.

❖ פיזור בלתי אחיד במח

❖ אפשרות של דיכוי ייצור חלבונים נוספים "off target effect"

❖ טרם נוסה על חיות לבדיקת שיפור התנהגותי

מחקר ה- Topotecan – עידכונים

Lee et al. *Molecular Autism* (2018) 9:45
<https://doi.org/10.1186/s13229-018-0228-2>

Molecular Autism

RESEARCH

Open Access



Characterization and structure-activity relationships of indenoisoquinoline-derived topoisomerase I inhibitors in unsilencing the dormant *Ube3a* gene associated with Angelman syndrome

Hyeong-Min Lee¹, Ellen P. Clark¹, M. Bram Kuijer¹, Mark Cushman², Yves Pommier³ and Benjamin D. Philpot^{1,4*}

❖ Ben Philpot בשיתוף עם
מומחים בפיתוח מעכבי
טופואיזומרז (Prof. Mark
Cushman - אינדיאנה,
NIH - Dr. Yves Pommier

❖ בדקו 13 תכשירים בעלי פעילות דומה, על תרביות של תאי עצב מעכבר.

❖ Indotecan – נמצא יעיל יותר מ Topotecan בביטול ההשתקה של
האלל האבהי ולכן יתכן שניתן יהיה לתת אותו במינונים יותר קטנים עם
פחות רעילות.

❖ עם זאת בינתיים לא מתקדמים במחקר לחיות מתנהגות לאור
ההתקדמות המבטיחה של הגישות האחרות...

גישת ה- Antisense oligonucleotide

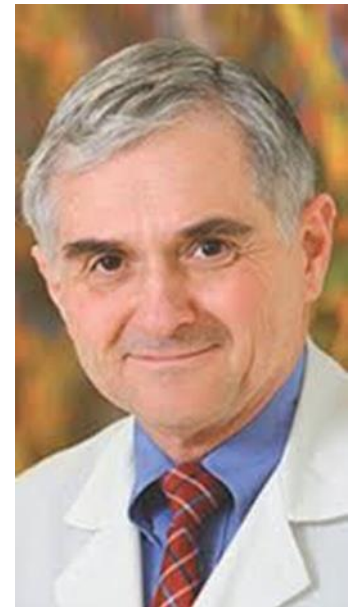
LETTER

doi:10.1038/nature13975

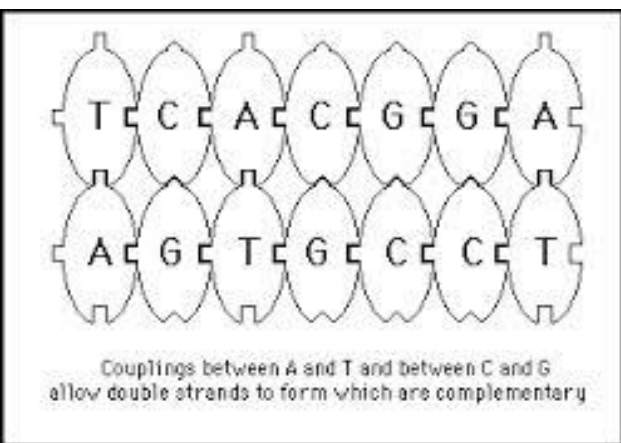
Towards a therapy for Angelman syndrome by targeting a long non-coding RNA

Linyan Meng^{1*}, Amanda J. Ward^{2*}, Seung Chun², C. Frank Bennett², Arthur L. Beaudet¹ & Frank Rigo²

Prof. Arthur L. Beaudet –
Baylor College of Medicine



Antisense oligonucleotide - המשך



❖ (ASO) Antisense oligonucleotide
הינם רצף של חומצות גרעין
(אוליגונוקלאוטידים) הנקשרים ל-RNA של ה-Antisense וגורמים לפירוקו

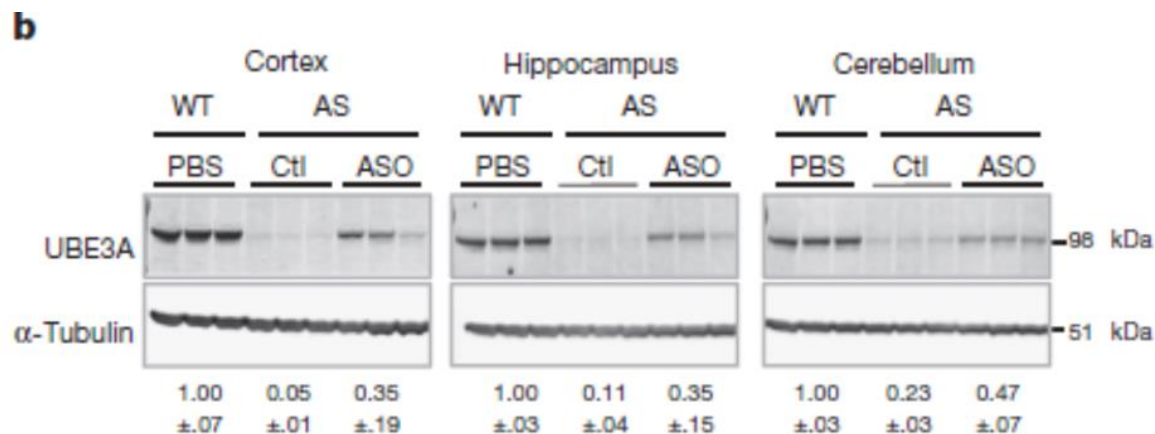
❖ פרופ Beaudet בשיתוף עם חברת Ionis Pharmaceuticals
איתרו בעזרת תרבויות נוירונים של עכבר ASOs הנקשרים ל-Antisense של ה-UBE3A בעכבר

❖ לאחרונה הודגמה הצלחה עם ASOs במחלות נוירולוגיות כגון ניוון שרירים של ילדים (SMA)

❖ הזרקה יחידה של ה- ASOs למח של עכברי תסמונת אנגלמן בני 2-4 ח' הביאה לירידה ברמת ה- Antisense ועליה בביטוי של ה- UBE3A האבהי.

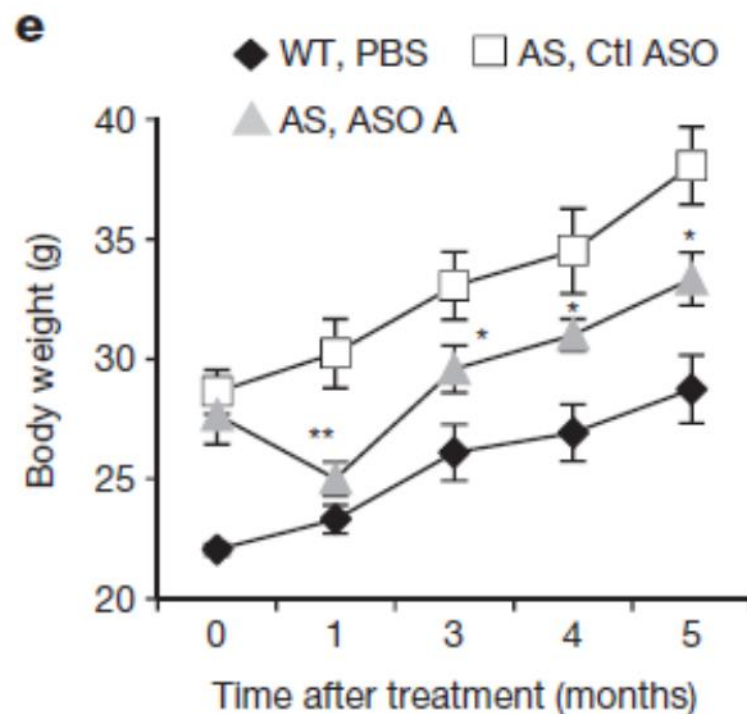
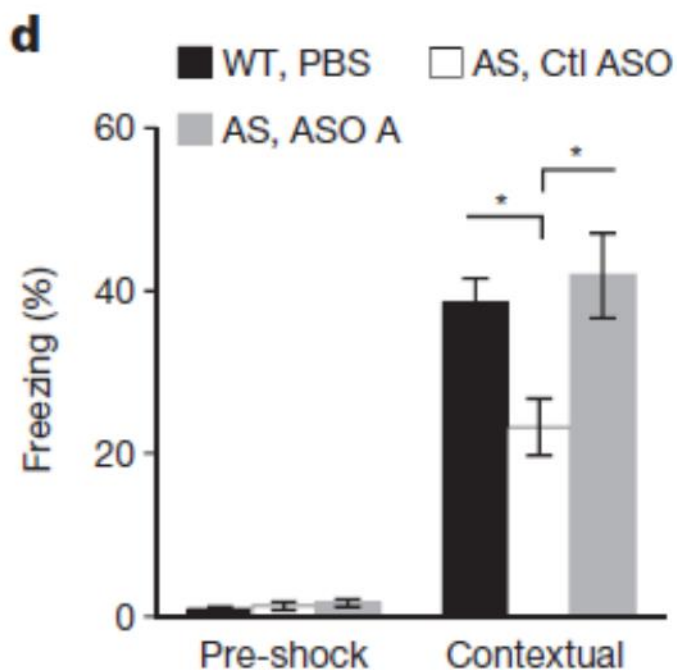
❖ הביטוי המוגבר היה בכל אזורי הממ.

❖ האפקט נשאר עד 5 חודשים לאחר ההזרקה



Antisense oligonucleotide - המשך

❖ במקביל לעליית ביטוי ה UBE3A הודגם שיפור במבחנים התנהגותיים ובמשקל העכבר.



ASO - חסרונות ותוכניות לעתיד

- ❖ מצריך הזרקה לנוזל חוט השדרה פעם בכמה חודשים.
- ❖ עליית הביטוי של UBE3A האבהי הייתה פחות מאשר בעכבר בריא.
- ❖ גם הפנוטיפ בעכבר השתפר רק חלקית.
- ❖ טרם נבדק על תאים של אדם וכעת עובדים על פיתוח ASOs עבור ה-Antisense של אדם ויצטרכו לבדוק גם אותם על עכבר...
- ❖ חברת Biogen חברה ל Ionis Pharmaceuticals ומתכננים לצאת עם מחקר קליני ב ASOs באנגלמן במהלך 2020.
- ❖ חברות נוספות מנסות לפתח ASOs לאנגלמן



גישת הנדוס חלבון רקומביננטי

original article

Official journal of the American Society of Gene & Cell Therapy

MTOpen

Protein Delivery of an Artificial Transcription Factor Restores Widespread Ube3a Expression in an Angelman Syndrome Mouse Brain

Barbara J Bailus¹, Benjamin Pyles¹, Michelle M McAlister¹, Henriette O'Geen¹, Sarah H Lockwood¹, Alexa N Adams¹, Jennifer Trang T Nguyen¹, Abigail Yu¹, Robert F Berman² and David J Segal¹

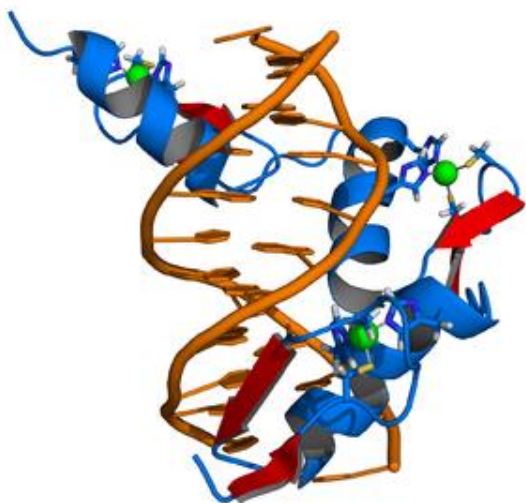
Segal et al, Molecular therapy, march 2016

Prof. David Segal –
UC Davis Genome Center



מחקר ה- Zinc fingers

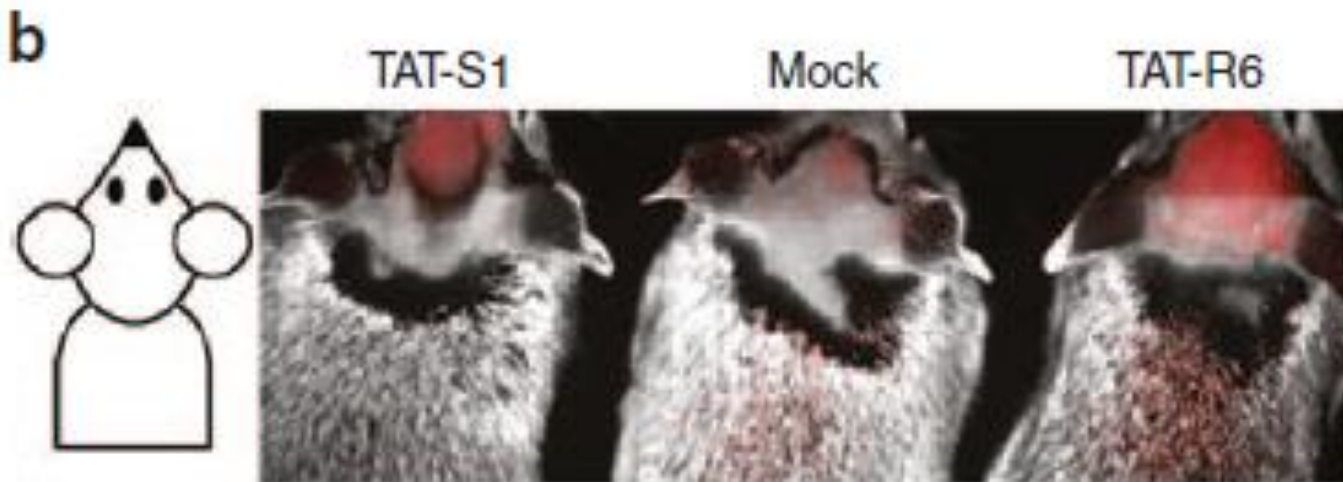
❖ ייצר באופן מלאכותי פקטורי שיעתוק (ATF) אשר מצד אחד מוצמדים ל- Zinc fingers המזהים את ה- UBE3A או ה- Antisense שלו ומצד שני מוצמדים לחלבונים קטנים "חודרי ממברנות" ולסמן פלורוסנטי.



❖ ניסה פקטורים להגברת שיעתוק של ה- UBE3A או עיכוב שיעתוק של ה- Antisense. הגישה השנייה הייתה יותר מוצלחת.

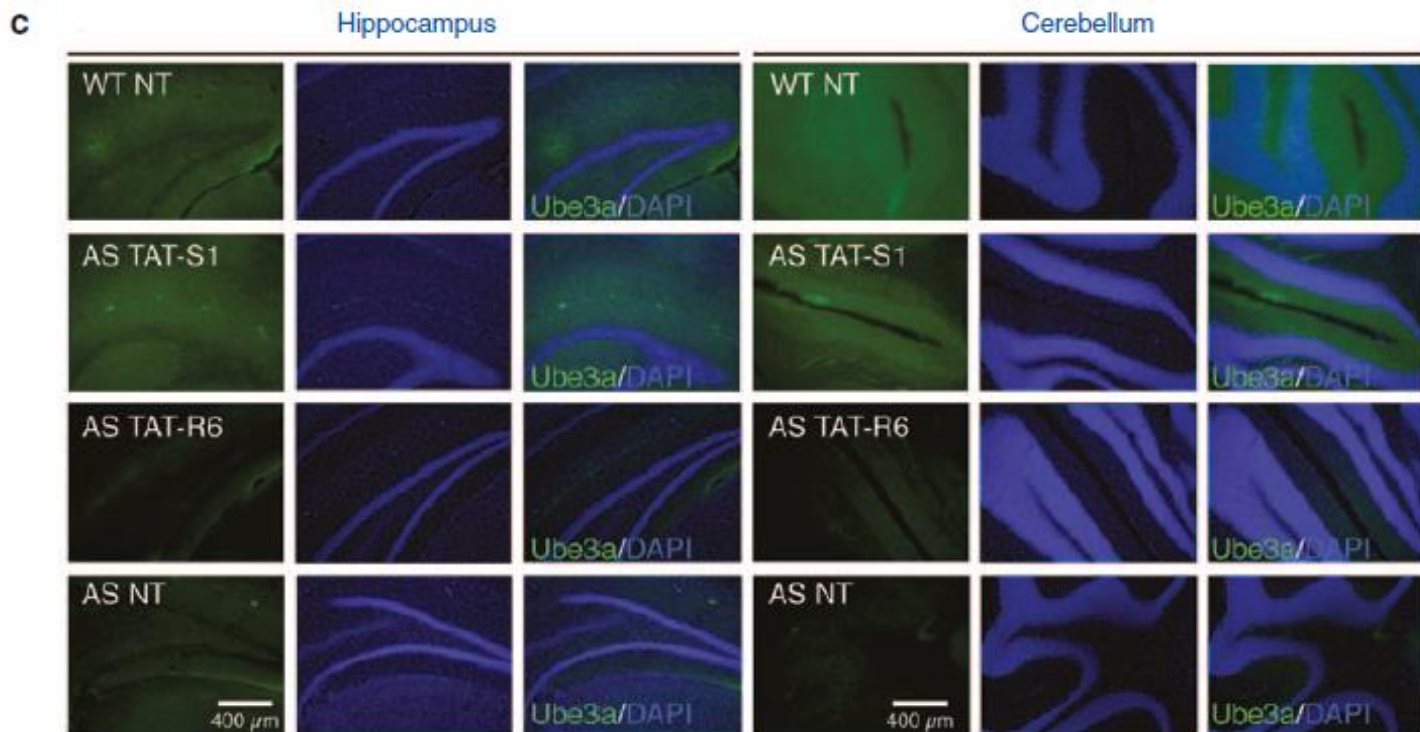
מחקר ה- Zinc fingers - המשך

❖ את החלבון המהונדס הזריקו לפריטונאום (בטן) של עכברי אנגלמן, גילו את הראש והראו ע"י הסמן הפלורוסנטי שהחלבון המלאכותי התפזר יפה בכל המח.



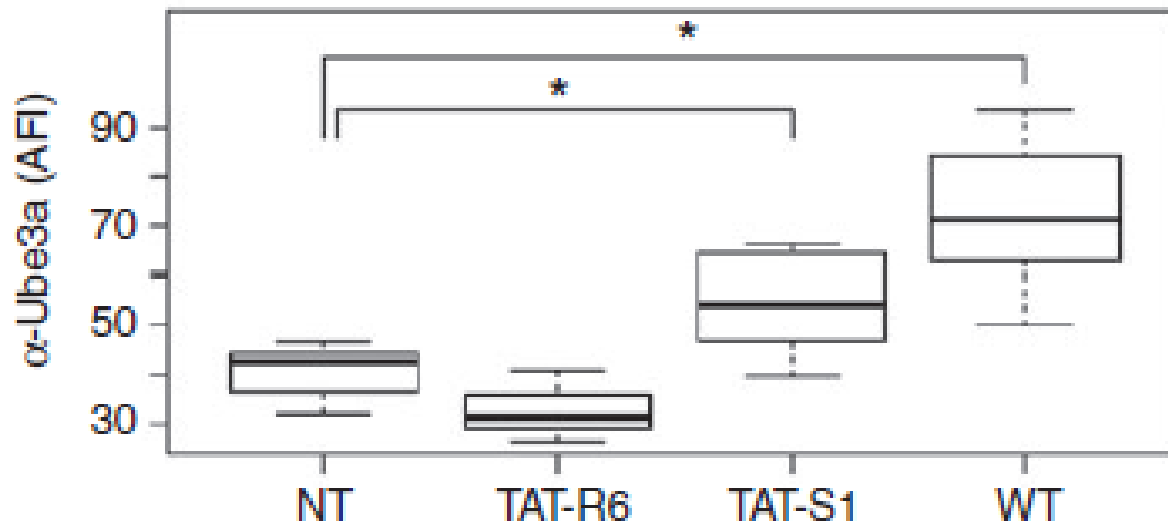
מחקר ה- Zinc fingers - המשך

❖ בהמשך הראו שיש עליה בביטוי של ה- UBE3A האבהי באזורי מוח שונים כגון היפוקמפוס (זיכרון) ובצרבלום (תנועה).



מחקר ה- Zinc fingers - המשך

d



❖ הודגם שיפור קל אך לא מובהק במבחנים התנהגותיים (קבירת גולות, טיפוס על סולם וריצה על מוט).

מחקר ה- Zinc fingers - המשך

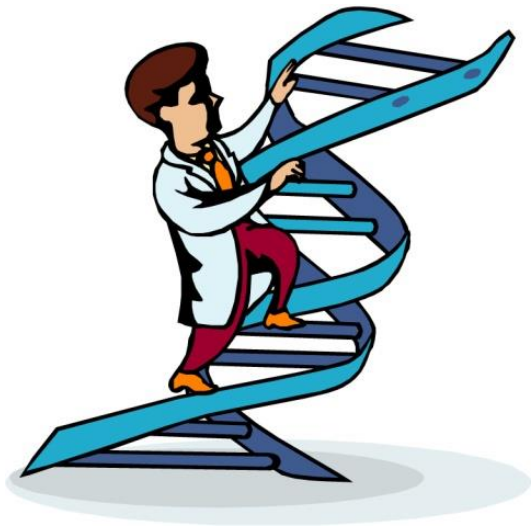
יתרונות:

- ❖ יש חדירות טובה למח גם כשמזריקים לבטן ויש פיזור טוב במח
- ❖ בשל ספציפיות לתאי עצב בוגרים לא אמור לגרום לביטוי עודף של UBE3A ברקמות אחרות בגוף

חסרונות:

- ❖ העלייה בכמות החלבון הייתה חלקית בלבד
- ❖ גם השיפור הקליני היה קל בלבד.
- ❖ דרושות הזרקות חוזרות (במחקר הזריקו 3 פעמים בשבוע במשך חודש 13 סה"כ הזרקות) ויש חשש שתפתח אלרגיה לחלבון

אסטרטגיות לטיפולים מוכוונים פוטנציאליים



❖ ביטול ההשתקה הטבעית של הגן האבהי:

- גישת מעכבי הטופואיזומרז

- גישת ה-Antisense oligonucleotides

- גישת הנדסת חלבון רקומביננטי

❖ החדרת עותק תקין של UBE3A – עם AAV וקטור

❖ התערבות במסלול בו פועל ה-UBE3A

החדרת עותק תקין של UBE3A

פרופ. אדווין ויבר, מאוניברסיטת דרום פלורידה
בשיתוף עם חברת אגיליס
(Agilis Biotherapeutics)



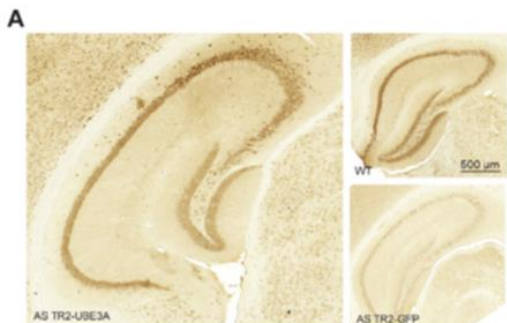
OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

Adeno-Associated Virus-Mediated Rescue of the Cognitive Defects in a Mouse Model for Angelman Syndrome

Jennifer L. Daily^{1,4}, Kevin Nash^{1,4}, Umesh Jinwal^{2,4}, Todd Golde^{5,6}, Justin Rogers^{1,4}, Melinda M. Peters^{1,4}, Rebecca D. Burdine³, Chad Dickey^{4,7}, Jessica L. Banko^{4,7}, Edwin J. Weeber^{1,4*}

החדרת עותק תקין של UBE3A - תזכורת למחקר של Ed Weeber



❖ יצרו ע"י הנדסה גנטית וירוס המכיל בתוכו עותק תקין של UBE3A

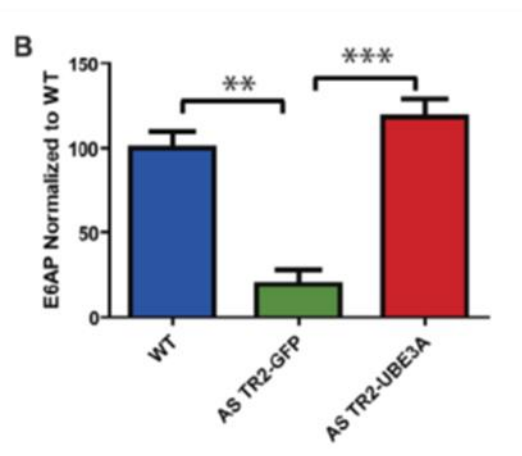
❖ הזריקו את הוירוס ישירות למח בעכברים בוגרים עם תסמונת אנגלמן

❖ ההזרקה הייתה לאזור במח שאחראי על למידה וזיכרון (היפוקמפוס) אך לא לאזור שאחראי על מוטוריקה עדינה.

❖ בעקבות ההזרקה הראו עליה של כמות החלבון לרמות תקינות

❖ בהתאם הראו שיפור ניכר במבחנים של למידה וזיכרון אך לא במוטוריקה העדינה.

❖ הראו שיפור בתפקוד החשמלי של תאי העצב הקשור ללמידה - LTP.



החדרת עותק תקין של UBE3A - עידכונים למחקר של Ed Weeber

❖ בהודעה לתקשורת בינואר 2016 באתר ה- FAST מודיעים על כוונה של חברת Agilis Biotherapeutics לבצע מחקר קליני המתבסס על העבודה של Ed Weeber.

❖ התכשיר של חברת agilis קיבל הכרה של "orphan drug status"

❖ חברת PTC Therapeutics הצהירה על כוונה לרכוש את חברת Agilis

❖ התכנון הנוכחי הוא להגיע למחקר קליני במהלך 2020

❖ היתרון – מדובר בהזרקה חד פעמית

❖ החסרונות - ידוע שביטוי יתר של UBE3A קשור באוטיזם
- בינתיים מדובר על הזרקה למח

אסטרטגיות לטיפול מוכוונים פוטנציאליים



❖ ביטול ההשתקה הטבעית של הגן האבהי:

- גישת מעכבי הטופואיזומרז

- גישת ה-Antisense oligonucleotides

- גישת הנדסת חלבון רקומביננטי

❖ החדרת עותק תקין של UBE3A – עם AAV וקטור

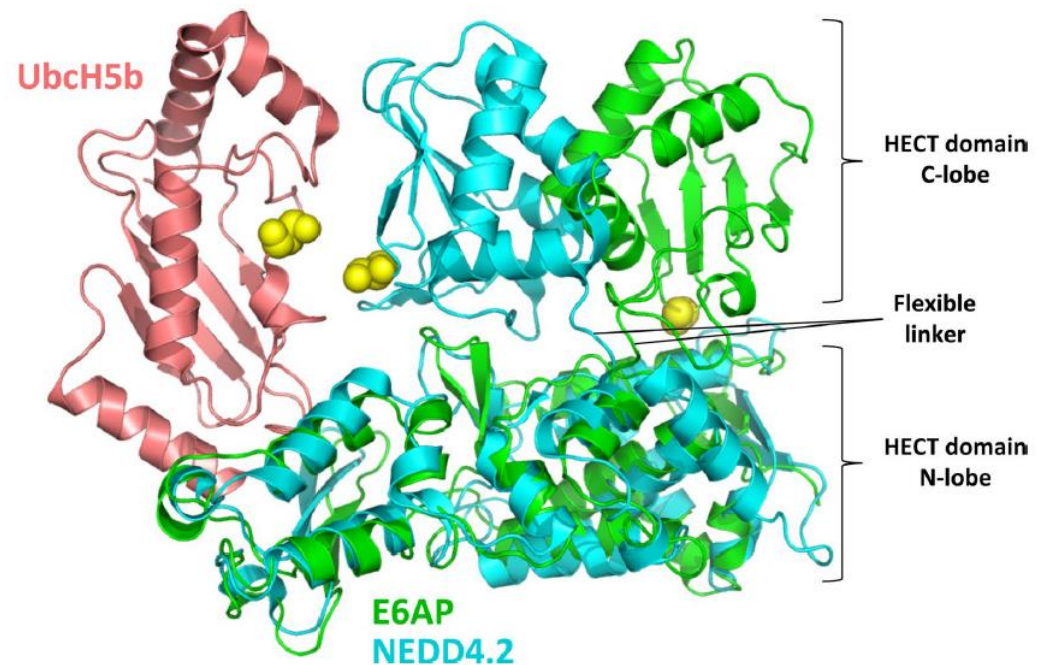
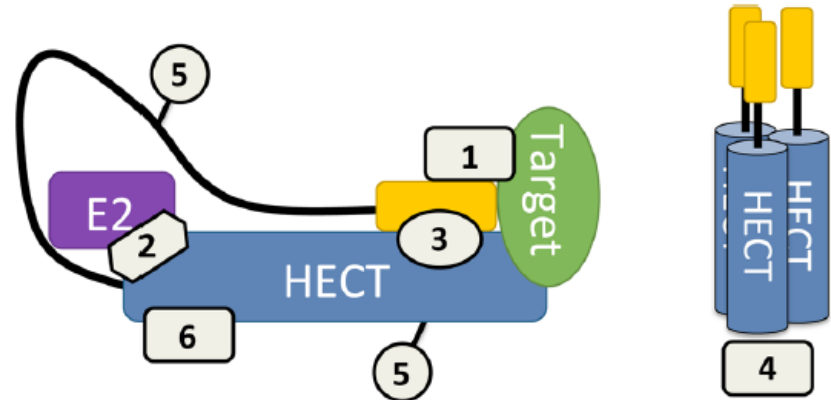
❖ התערבות במסלול בו פועל ה-UBE3A

התערבות במסלול בו פועל ה UBE3A



Prof Ben Distel

Amsterdam UMC
Universitair Medische Centra



האם ישנו חלון זמן קצוב להתערבויות גנטיות?

The Journal of Clinical Investigation

RESEARCH ARTICLE

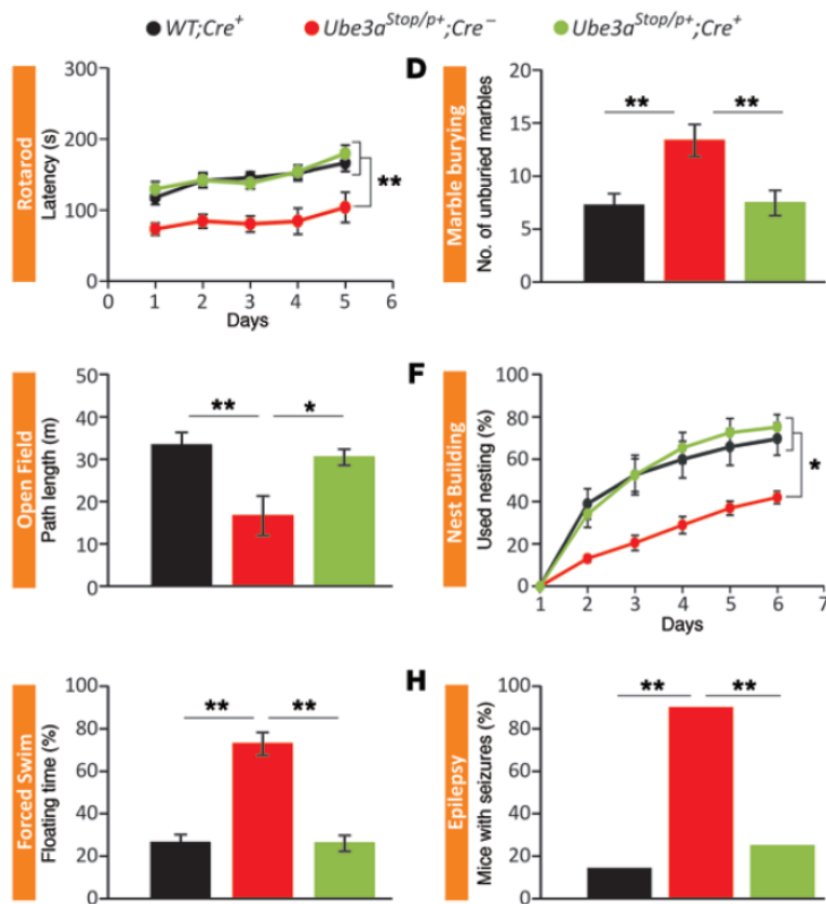
Ube3a reinstatement identifies distinct developmental windows in a murine Angelman syndrome model

Sara Silva-Santos,^{1,2,3} Geeske M. van Woerden,^{1,2} Caroline F. Bruinsma,^{1,2} Edwin Mientjes,^{1,2} Mehrnough Aghadavoud Jolfaei,^{1,2} Ben Distel,⁴ Steven A. Kushner,^{2,5} and Ype Elgersma^{1,2}

Prof. Ype Elgersma –
Erasmus medical center

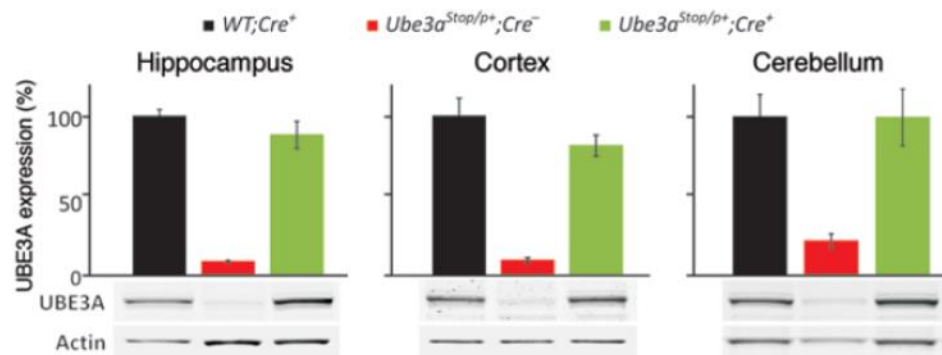


שאלת חלון הזמן



❖ פיתח מודל עכבר שבו ה-UBE3A האימהי מושחק באופן מלאכותי וניתן להחזיר אותו בכל רגע נתון לפי בחירה.

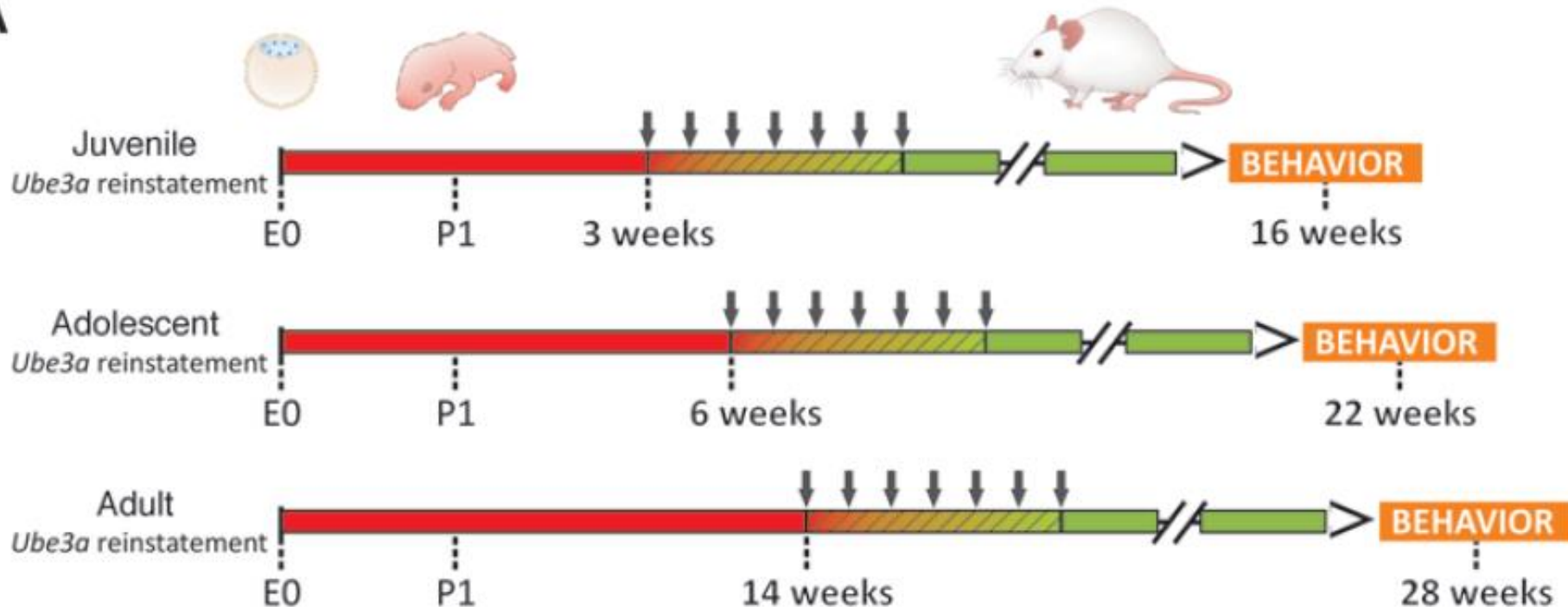
❖ החזרה של הגן עוד בעובר מביאה לתפקוד תקין לחלוטין של העכבר



שאלת חלון הזמן

- ❖ האפילפסיה, הפרעת ההתנהגות והחרדה תוקנו רק כאשר הגן הוחזר בילדות המוקדמת
- ❖ התפקוד המוטורי חזר לתקין גם כאשר הגן הוחזר בגיל ההתבגרות
- ❖ פוטנציאל הלמידה (LTP) היה ניתן לשיפור בכל גיל בו הוחזר הגן

A



ביסוס מדדי הערכה אמינים - במודל

Sorzogni et al. *Molecular Autism* (2018) 9:47
https://doi.org/10.1186/s13229-018-0231-7

Molecular Autism

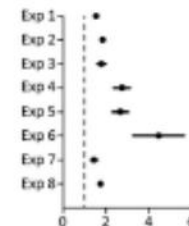
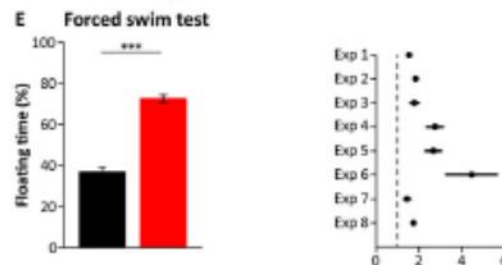
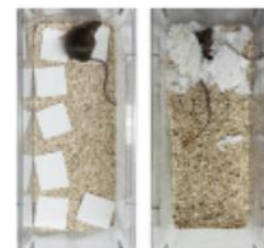
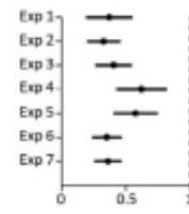
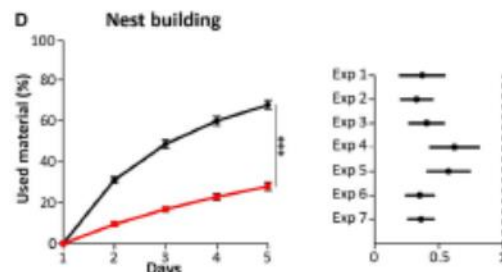
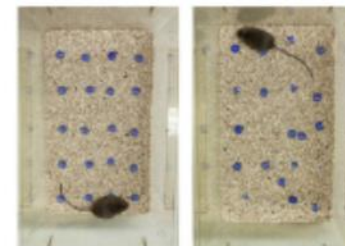
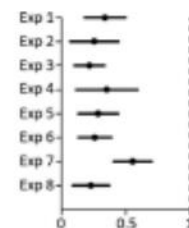
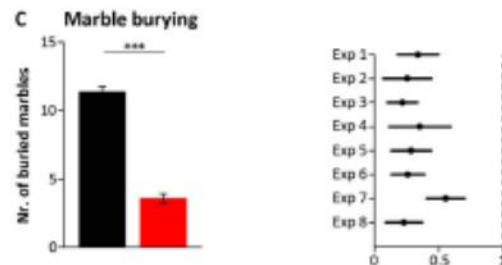
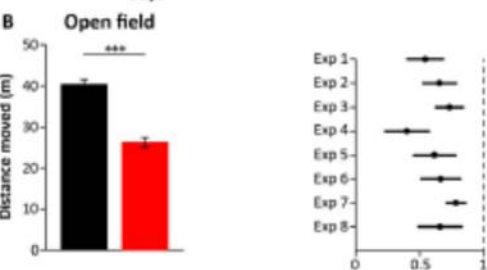
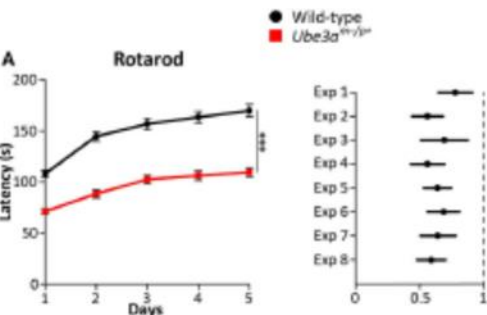
RESEARCH

Open Access



A behavioral test battery for mouse models of Angelman syndrome: a powerful tool for testing drugs and novel *Ube3a* mutants

Monica Sorzogni^{1,2†}, Ilse Wallaard^{1,2†}, Sara Silva Santos^{1,2†}, Jenina Kingma^{1,2}, Dorine du Mee^{1,2}, Geeske M. van Woerden^{1,2} and Ype Elgersma^{1,2*}



ביסוס מדדי הערכה אמינים - במודל

ARTICLE

Received 20 Dec 2016 | Accepted 16 Feb 2017 | Published 24 Apr 2017

DOI: 10.1038/ncomms15038

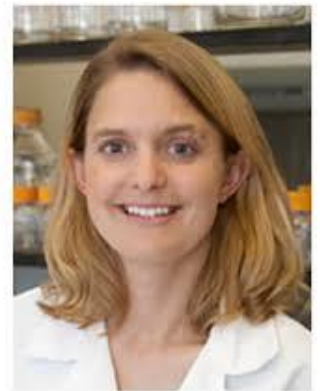
OPEN

Disrupted neuronal maturation in Angelman syndrome-derived induced pluripotent stem cells

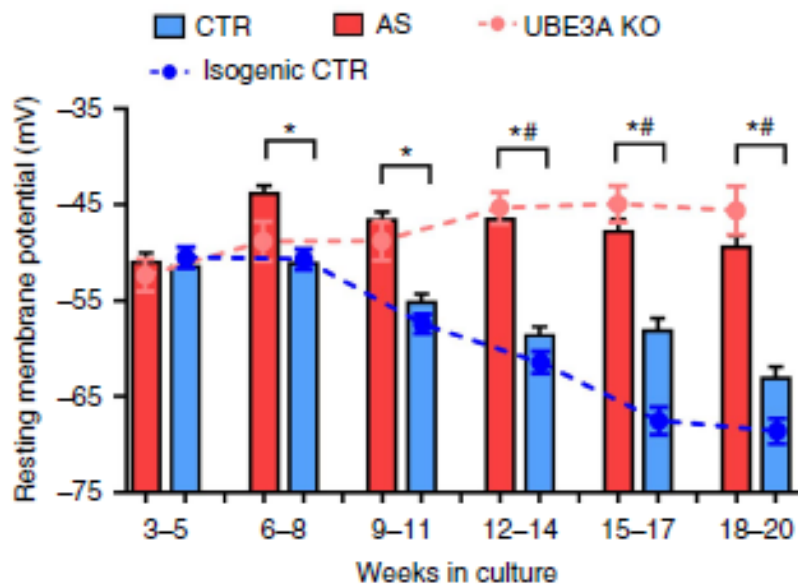
James J. Fink¹, Tiwanna M. Robinson¹, Noelle D. Germain², Carissa L. Sirois², Kaitlyn A. Bolduc¹, Amanda J. Ward³, Frank Rigo³, Stormy J. Chamberlain² & Eric S. Levine¹



Prof. Stormy Chamberlain &
Prof. Eric Levine
from the University of Connecticut
School of Medicine



ביסוס מדדי הערכה אמינים - במודל



❖ גידול תאי עצב מחולי אנגלמן (iPSC)

❖ מצאו פגיעה בהבשלת פוטנציאל הממברנה

בתאים, בפוטנציאל הפעולה של הירי

החשמלי בתאים, בפעילות הסינפטית

ובפלסטיסיות הסינפטית.

❖ הראו שהממצאים הללו ניתנים לתיקון ע"י החזרת ביטוי ה UBE3A ולכן יוכלו לשמש

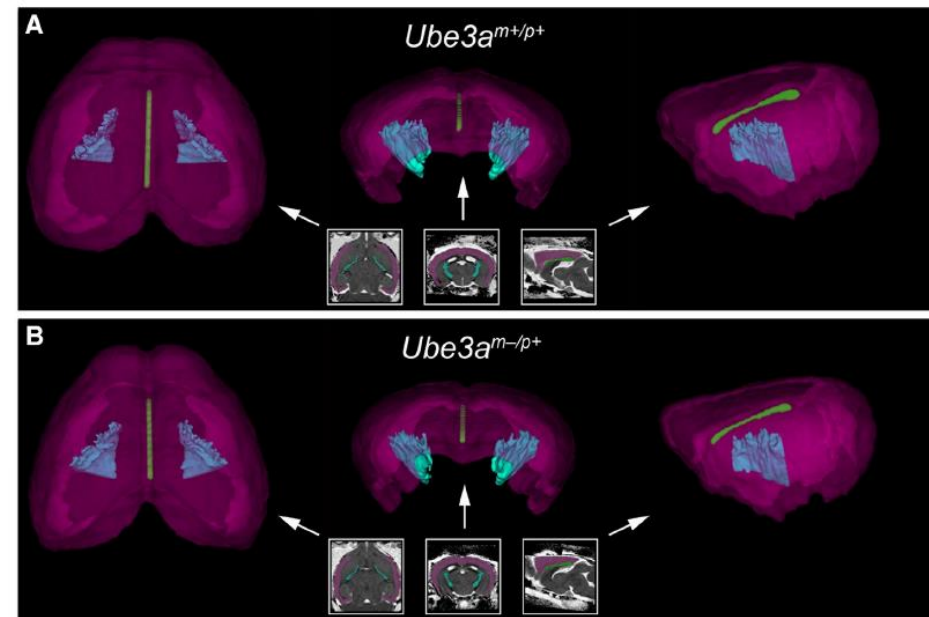
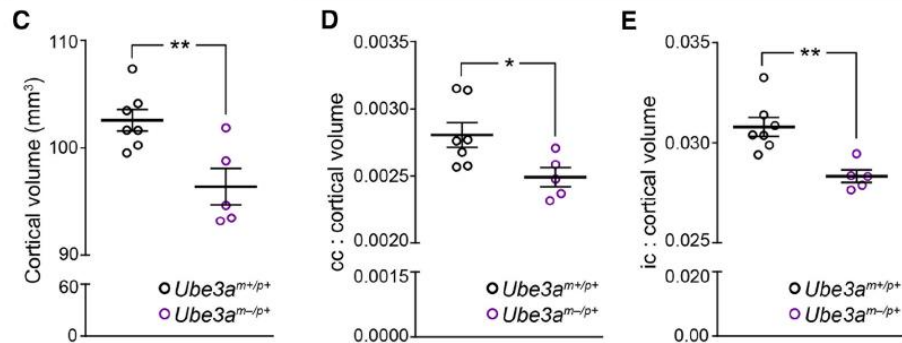
לבדיקת תרופות עתידיות.

ביסוס מדדי הערכה אמינים - במטופלים

Decreased Axon Caliber Underlies Loss of Fiber Tract Integrity, Disproportional Reductions in White Matter Volume, and Microcephaly in Angelman Syndrome Model Mice

Matthew C. Judson,^{1,2} Alain C. Burette,^{1*} Courtney L. Thaxton,^{1,2*} Alain L. Pribisko,¹ Mark D. Shen,² Ashley M. Rumple,³ Wilmer A. Del Cid,^{1,4} Beatriz Paniagua,³ Martin Styner,³ Richard J. Weinberg,^{1,5} and Benjamin D. Philpot^{1,2,5}

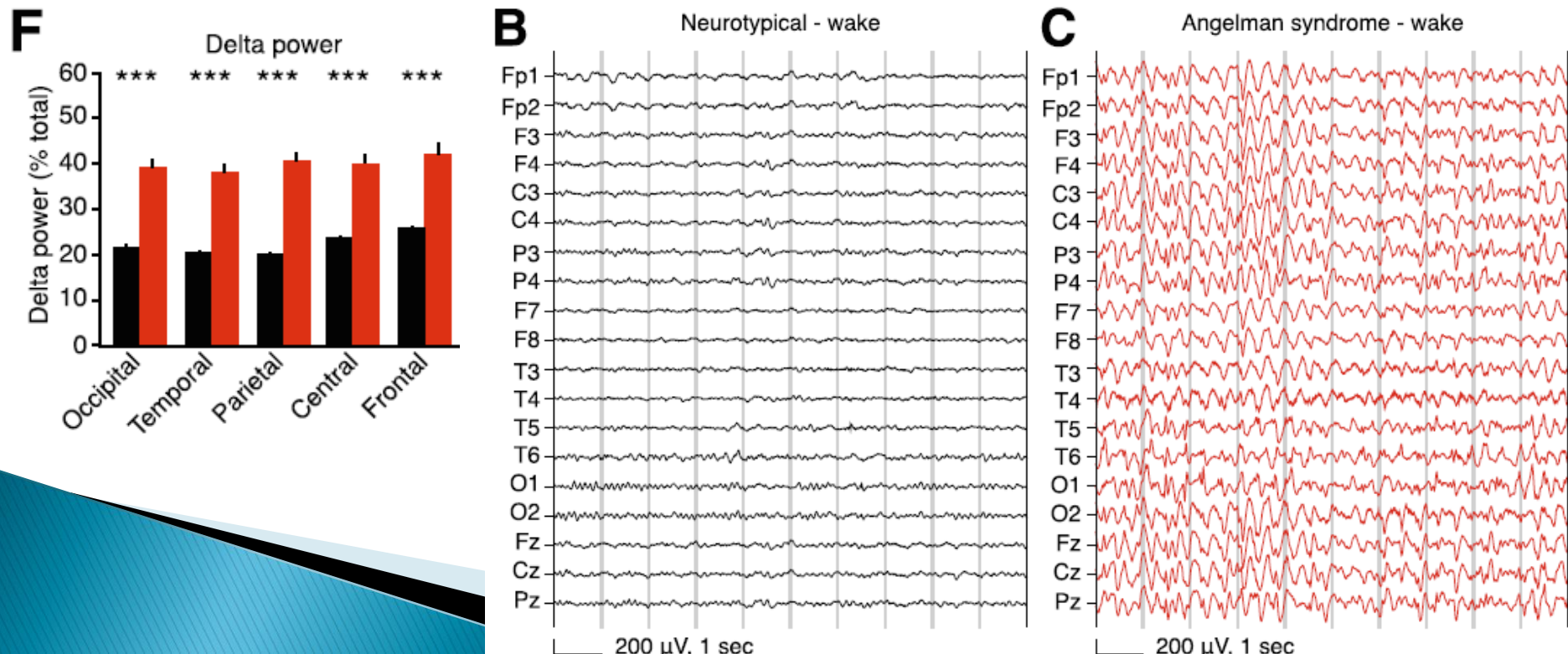
The Journal of Neuroscience, August 2, 2017 • 37(31):7347–7361 • 7347



ביסוס מדדי הערכה אמינים - במטופלים

Delta rhythmicity is a reliable EEG biomarker in Angelman syndrome: a parallel mouse and human analysis

Michael S. Sidorov^{1,2,3}, Gina M. Deck^{4,5,8}, Marjan Dolatshahi^{4,5}, Ronald L. Thibert⁴, Lynne M. Bird^{6,7}, Catherine J. Chu^{4,5*} and Benjamin D. Philpot^{1,2,3*}



ביסוס מדדי הערכה אמינים - במטופלים

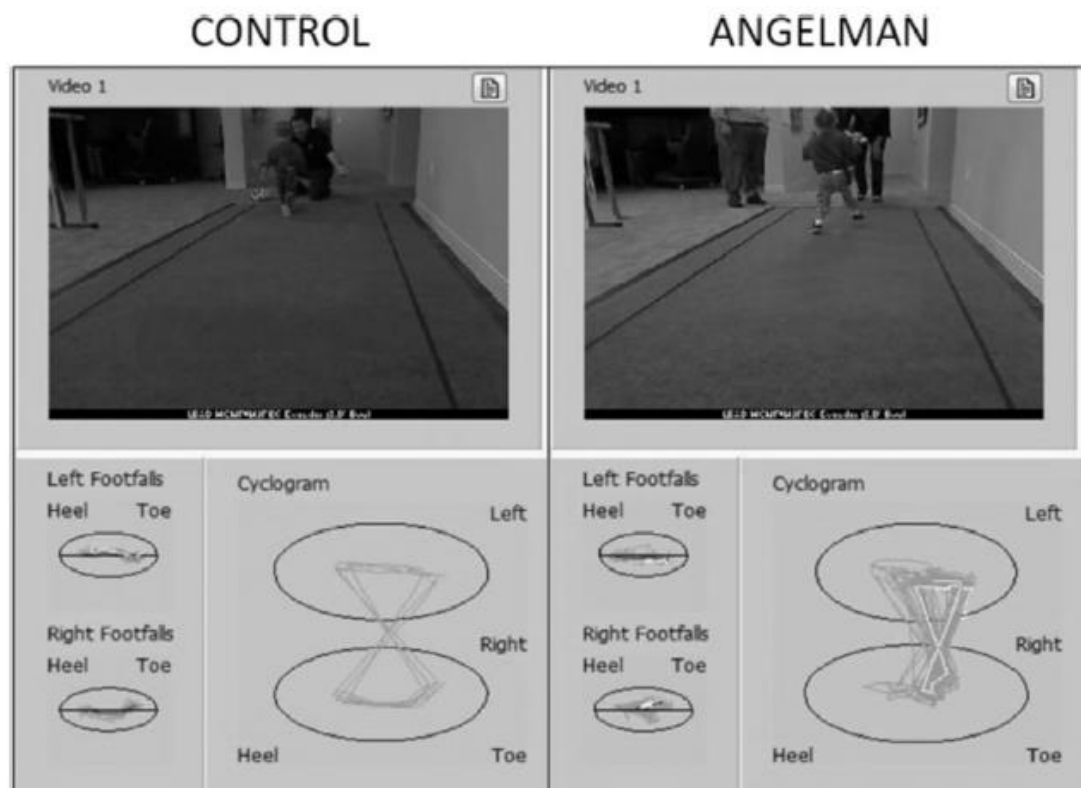
Identification of spatiotemporal gait parameters and pressure-related characteristics in children with Angelman syndrome:

A pilot study

Joseph C. Grieco¹ | Arnaud Gouelle^{2,3} | Edwin J. Weeber¹

J Appl Res Intellect Disabil. 2018;31:1219-1224.

- ❖ עבודה ראשונית ב 6 ילדי AS
- ❖ מצאה אפשרות לכימות הפרעת ההליכה ע"י מדידת אורך הצעד, מהירות ההליכה, רוחב בסיס ההליכה, וריאביליות דפוס הצעד ומיקום מרכז הלחץ בהליכה.



ביסוס מדדי הערכה אמינים - במטופלים

המרשם העולמי לתסמונת אנגלמן

עד כה נרשמו <
750 מטופלים

נמצא באוויר כבר
שנתיים

תורגם ל -
לאיטלקית, ספרדית,
מנדרינית (סינית),
צרפתית ופורטוגזית

משתתפות בינתיים
44 ארצות

בקרב יעלה לאוויר
גם תרגום לעברית...



משפחות ומטפלים מזינים מידע לגבי ילדיהם המאובחנים בתסמונת אנגלמן

- הסכמה מדעת נדרשת להשתתפות במרשם ומאפשרת למשפחות מכל רחבי העולם להצטרף.
- המידע מוצפן ומאוחסן בשרתים ברמת אבטחה גבוהה המתאימה לאחסנת מידע רפואי רגיש אודות מספר גדול של אנשים.
- המידע עובר הליך הסרת זהות, שאחריו לא תהיה אפשרות לזהות את האדם לפי המידע.
- הליך האיסוף והאחסון בוצע בפיקוחה של ועדת אתיקה.
- ההשתתפות במאגר היא מרצון ואפשר לסגת בכל עת.



רופאים: רופאי ילדים, רופאי משפחה, נוירולוגים, וכו' וגם מטפלים פרה-רפואיים יכולים:

1. לצפות ולאשרר מידע מטעם האדם המאובחן בתסמונת אנגלמן.
2. ללמוד אודות התסמונת כדי לסייע באבחון מדויק ומהיר.
3. לבצע שימוש במידע מהמאגר כדי ליידע אנשים עם אנגלמן בתכניות טיפוליות.



חוקרים יכולים להשתמש במידע מן המאגר, עבור עבודותיהם בתסמונת אנגלמן

- חוקרים יכולים להשתמש בתבניות המידע הקיימות, או ליצור קשר עם המערכת האוגרת מידע בכדי להתאים אישית תבניות למחקר שלהם.
- חוקרים יכולים לגשת למידע שלהם בכל זמן נתון.
- ניתן לייצא מידע מן המאגר בכל זמן.
- לחוקרים אין גישה למידע אישי ללא הסכמת המטופל ומשפחתו.
- בקשת גישה למידע אישי, תטופל בהליך אתי ומוסדי.



המרשם עשוי להיות מקור לגיוס מטופלים לניסויים קליניים:

- **חוקרים וחברות תרופות וביומאד יכולים ליצור קשר עם המערכת אוגרת המידע ולקבל מידע אודות מספר המטופלים המאובחנים באנגלמן שמתאימים לדרישות הניסוי לפי: גיל, מין, מצב אפילפטי, יכולות מוטוריות, תקשורת, ועוד.**
- **מטופלים יכולים לקבל מידע, דרך המרשם, על ניסויים קליניים שעשויים להתאים.**
- **לחוקרים ולחברות אין גישה למידע אישי ללא הסכמת המטופל ומשפחתו.**
- **בקשה לגישה למידע אישי, תטופל בהליך אתי ומוסדי.**



אוצר המידע של המרשם, מהווה מקור ראשוני ליצירת קשר עבור:

1. שאלות מצד משפחות או משתתפים אחרים במרשם.
2. סיוע בשימוש באפשרויות השונות של מאגרי המידע.
3. תיאום וניהול הליך הולם בעת בקשה למידע מתוך המרשם ע"י חוקרים לצורכי מחקר קליני, או ע"י ההורים.

למידע נוסף -

angelmanregistry.info

Global Angelman Syndrome
Registry Facebook page

chloe@cureangelman.org.au

