Vielversprechender Wirkstoff zur Therapie der amyothrophen Lateralsklerose entwickelt

**Die amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine seltene und unheilbare Erkrankung der Bewegungsneuronen, die allmählich zu muskulären Lähmungen und Muskelabbau führt. Nun ist es einem Forscherteam der Universität Heidelberg gelungen, einen Wirkstoff (FP802) zu entwickeln, der die Bildung des für die Zerstörung der motorischen Neuronen verantwortlichen toxischen eNMDA-Rezeptor/TRPM4-Protein-Komplexes verhindert. In einem ALS-Mausmodell war FP802 in der Lage, das Absterben von motorischen Rückenmarksneuronen und den Verlust motorischer Fähigkeiten zu stoppen. Auch schützte FP802 vor der Zerstörung von Neuronen in Hirnorganoiden, die aus Zellen von ALS-Patienten gezüchtet wurden. Der Wirkstoff FP802 könnte in ein vielversprechendes Medikament zur Therapie von ALS entwickelt werden.**

Die amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine degenerative Erkrankung des motorischen Nervensystems (Motoneuron-Krankheit). Betroffen sind motorische Neurone in der Hirnrinde, im Hirnstamm und im Rückenmark. Im Verlauf der unheilbaren Krankheit sterben diese motorischen Neurone ab, was mit einer Lähmung und Muskelschwund einhergeht und zu fortschreitenden Einschränkungen bei Aktivitäten im täglichen Leben und schließlich zum Tod durch Atemstillstand führt. In Deutschland erkranken jedes Jahr etwa 2500 Menschen neu an ALS. Betroffen sind überwiegend Menschen im Alter von 60 bis 80 Jahren. Bekannt geworden ist die Krankheit durch den britischen Physiker Stephen Hawkings (1942-2018), bei dem ALS bereits im Alter von 21 Jahren diagnostiziert wurde.

In den meisten Fällen ist die Entstehungsursache von ALS nicht bekannt. Bei etwa 10% der Betroffenen kann der Ausbruch der Krankheit auf erbliche Mutationen in einem oder mehreren Genen zurückgeführt werden. Gemein bei allen Formen der Krankheit ist eine reduzierte Expression oder Aktivität der exzitatorischen Aminosäuretransporter (*excitatory amino acid transporters*, EAATs). Die Folge ist ein verminderter Rücktransport der Aminosäure Glutamat aus dem synaptischen Spalt, wodurch es zu einer erhöhten extrazellulären Glutamatkonzentration kommt. Das überschüssige Glutamat wird von extrasynaptischen *N*-Methyl-D-Aspartat (eNMDA)-Rezeptoren gebunden, was ein toxisches Signal auslöst und für das Absterben der motorischen Neuronen bei ALS verantwortlich gemacht wird. Die genaue Rolle der eNMDA-Rezeptoren bei der ALS-Pathogenese ist jedoch weitgehend unerforscht. Zwar gibt es wirksame NMDA-Rezeptorinhibitoren, aber aufgrund der dualen Funktion der Rezeptoren im Gehirn (während eNMDA-Rezeptoren die primären Mediatoren des Glutamat-induzierten neuronalen Zelltods sind, spielen synaptische NMDA (sNMDA)-Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der Synapsen-Plastizität) beeinträchtigen die Hemmstoffe auch die Lern- und Gedächtnisprozesse. Deshalb sind solche NMDA-Rezeptorinhibitoren als therapeutische Wirkstoffe ungeeignet.

Jetzt hat eine Forschergruppe der Ruprechts-Karls-Universität Heidelberg einen Hemmstoff entwickelt, der spezifisch die toxische Wirkung von eNMDA-Rezeptoren blockiert, ohne dabei die physiologischen Funktionen der sNMDA-Rezeptoren zu beeinflussen [1]. Bereits in einer früheren Studie entdeckte die Arbeitsgruppe, dass das toxische Signal der eNMDA-Rezeptoren erst durch Interaktion mit dem TRPM4-Protein ausgelöst wird (Abb. 1a) [2]. Der toxische eNMDA-Rezeptor/TRPM4-Komplex entsteht dadurch, dass sich das TRPM4-Protein mit seiner TwinF-Domäme an den eNMDA-Rezeptor heftet. Diese Interaktion könnte jedoch mit Hemmstoffen, die spezifisch an die TwinF-Domäne des TRPM4-Proteins binden (TwinF-Inhibitor), unterbrochen werden (Abb. 1b). Mithilfe des prototypischen Hemmstoffs Verbindung 8 (Abb. 2) konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, die Bildung des toxischen Komplexes aus eNMDA-Rezeptor und TRPM4-Protein vollständig zu verhindern. Da aber Verbindung 8 eine Phenylbromidgruppe enthält, die bei der Verstoffwechselung der Substanz Bromid und/oder Methylbromid freisetzen könnte, was zu Irritationen und Vergiftungen führen kann, ist eine langfristige Anwendung beim Menschen eher bedenklich. Aus diesem Grund wurden Analoga der Verbindung 8 synthetisiert, die kein Bromatom enthielten. Dies brachte die Verbindung FP802 (Abb. 2) hervor, ein Phenylchloridderivat der Verbindung 8, das ähnliche physikalisch-chemische Parameter und wirksamen Schutz gegen Glutamat-induzierte Neurotoxizität zeigte.

Als Nächstes wurde die Wirkung von FP802 in transgenen SOD1G93A-Mäusen untersucht. Diese Mäuse exprimieren ein mutiertes menschliches SOD1-Gen (Austausch von Glycine gegen Alanin an Position 93), welches für eine der erblichen Formen von ALS verantwortlich ist. Dieses Mausmodell ist weithin anerkannt als Tiermodell zur Evaluierung der Wirksamkeit von ALS-Arzneistoffen. Um zu bestimmen, ob FP802 unter *In-vivo*-Bedingungen die Interaktion zwischen eNMDA-Rezeptor und TRPM4-Protein blockieren kann, wurde den SOD1G93A-Mäusen der Wirkstoff subkutan mittels einer implantierten Minipumpe zwei Wochen lang verabreicht. Anschließende Co-Immunpräzipitationsexperimente mit Rückenmarkslysaten zeigten, dass es bei FP802-behandelten Mäusen zu keiner Interaktion zwischen eNMDA-Rezeptor und TRPM4-Protein kam. Auch wurde untersucht, ob eine Behandlung mit FB802 bei SOD1G93A-Mäusen einen therapeutischen Effekt zeigte. Die Mäuse wurden nach dem Auftreten der ersten Anzeichen der Krankheit (im Alter von 15 Wochen) für 4 Wochen mit dem Wirkstoff behandelt. Die behandelten Mäuse hatten deutlich bessere neurologische Werte und einen geringeren Gewichtsverlust als placebobehandelte Mäuse. Darüber hinaus zeigten die FP802-behandelten Mäuse verbesserte motorische Fähigkeiten: Sie konnten besser und weiter laufen als die scheinbehandelten Kontrolltiere. Zudem stoppte der Wirkstoff das Absterben von motorischen Neuronen im Rückenmark der transgenen Mäuse. Insgesamt kann festgehalten werden, dass FP802 das Fortschreiten von ALS bei SOD1G93A-Mäusen deutlich verlangsamte und das Überleben der Tiere verlängerte (die durchschnittliche Überlebenszeit stieg von 151 Tagen auf 164 Tage an).

Der durch FP802 vermittelte Schutz vor dem Absterben der motorischen Rückenmarksneuronen bei SOD1G93A-Mäusen ging mit einer Abnahme der leichten Kette des Neurofilaments (NfL) im Serum der Tiere einher. NfL ist ein Protein des Zytoskeletts von Neuronen und ein wichtiger Biomarker zur Kontrolle des Fortschreitens von ALS bei Patienten. Da zudem FP802 die Expression der exzitatorischen Aminosäuretransporter nicht signifikant beeinflusste, legen die Ergebnisse nahe, dass die toxische Wirkung des eNMDA-Rezeptors ein wichtiger Treiber für die Degeneration und den Tod von motorischen Neuronen in den ALS-Mäusen ist.

Um zu überprüfen, ob die mit den SOD1G93A-Mäusen erhaltenen Ergebnisse auch auf menschliche Neuronen übertragbar sind, wurden Versuche mit menschlichen Vorderhirn-Organoiden durchgeführt. Diese organähnlichen Mikrostrukturen wurden aus von ALS-Patienten abgeleiteten induzierten pluripotenten Stammzellen gezüchtet. Die ALS-Organoide waren empfindlicher gegenüber einer indizierten NMDA-Rezeptor-Toxizität als entsprechende Organoide von gesunden Menschen. Dieses Ergebnis zeigte, dass die von ALS-Patienten abgeleiteten Organoiden sich hervorragend als präklinisches ALS-Modell eignen. Darüber hinaus verhinderte der Wirkstoff FP802 in einer dosisabhängigen Weise das Absterben von Neuronen in den ALS-Organoiden nach Induktion mit dem NMDA-Rezeptor. Dieser Befund weist darauf hin, dass der durch eNMDA-Rezpetor induzierte neuronale Zelltod entwicklungsgeschichtlich konserviert ist und dass dieser Prozess durch FP802 effektiv auch bei menschlichen Neuronen von ALS-Patienten gehemmt werden kann.

Die Entdeckung, dass die Bildung des toxischen eNMDA-Rezeptor/TRPM4-Komplexes durch spezifische Hemmstoffe blockiert werden kann, bietet einen vielversprechenden, neuartigen Ansatz zur ALS-Therapie. Mit FP802 ist zudem ein Wirkstoff gefunden worden, der das Potenzial hat, in ein ALS-Medikament weiterentwickelt werden zu können. Zwar kann FP802 ALS nicht heilen, aber der Wirkstoff kann das Fortschreiten der neurodegenerativen Erkrankung stoppen oder zumindest verlangsamen und somit das Überleben von ALS-Patienten verlängern.

[1] J. Yan et al., Cell Rep. Med. **5**, 101413 (2024) – [2] J. Yan et al., Science **370**, eaay3302 (2020)].

*PD Dr. Dietmar Steverding, Norwich, England*



**Abb. 1.** Wirkungsweise von TwinF-Inhibitoren. **-a**: Bei der amyotrophen Lateralsklerose (ALS) steigt die Glutamat-Konzentration außerhalb des synaptischen Spalts stark an, was zur Aktivierung des eNMDA-Rezeptor/TRPM4-Protein-Komplexes führt. Dies löst ein toxisches Signal aus, das für das Absterben der motorischen Neuronen bei ALS verantwortlich ist. **-b**: TwinF-Inhibitoren binden spezifisch an die TwinF-Domäne, mit welcher sich normalerweise das TRPM4-Protein an den eNMDA-Rezeptor heftet. Dadurch wird die Interaktion zwischen dem eNMDA-Rezeptor und dem TRPM4-Protein verhindert, und das toxische Signal wird nicht ausgelöst. [Abb.: D. Steverding, verändert nach [1], Graphical Abstract]



 X = Br: Verbindung 8

 X = Cl: FP802

**Abb. 2.** Chemische Struktur von Verbindung 8 und FP802. [Abb.: D. Steverding, verändert nach [1], Fig. 1A]