

Antisense-Therapie neurologischer Erkrankungen

Stefan#M. Pulst

Der Nervenarzt

Organ der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde
Organ der Deutschen Gesellschaft für Neurologie

ISSN 0028-2804

Nervenarzt

DOI 10.1007/s00115-019-0724-4



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".



Antisense-Therapie neurologischer Erkrankungen

Hintergrund

Die genetische Revolution der letzten Jahrzehnte hat zur Identifizierung vieler Krankheitsgene geführt. Trotz dieser enormen Erfolge ist die Therapie dieser Erkrankungen nur langsam vorangekommen. Der anfängliche, retrospektiv in gewissem Maße naive Glaube, dass die Klonierung neuer Gene zu ihrer sofortigen Einreihung in Stoffwechsel- oder Signaltransduktionswege führen würde und damit zu klaren Therapien, hat sich im Großen und Ganzen nicht erfüllt. Eine der wenigen Ausnahmen stellt der Enzymersatz dar, z. B. bei Morbus Pompe. Krankheitsproteine, insbesondere die dominant mutierten Proteine, haben oft viele Proteininteraktionspartner und können eine Rolle in mehreren zellulären Wegen spielen.

Manche mutierte Proteine erwerben auch neue oder toxische Funktionen. Die Möglichkeit, den Krankheitsprozess auf der Ebene des Gens und der RNA zu modulieren, führt dazu, dass man die Krankheit im ersten Schritt der Pathogenese beeinflussen kann, ohne dass eine genaue Kenntnis der Funktion des betroffenen Proteins notwendig ist.

Eine personalisierte Gentherapie beinhaltet auch, dass wir Erkrankungen nicht mehr aufgrund ihres klinischen Phänotyps definieren, sondern auf der Basis des mutierten Gens, des Genotyps. Dabei muss man wissen, ob das mutierte Allel dominante, rezessive, dominant negative oder haploinsuffiziente Effekte hat.

Die Gentherapie erfasst heutzutage ganz verschiedene Technologien und beinhaltet CRISP/Cas9-Editierung von DNA und RNA, RNA-Interferenz (siRNA, miRNA, shRNA), „antisense

oligonucleotides“ (ASOs) und die virale Therapie mit Genen oder Minigenen. Im Folgenden werde ich mich auf die Diskussion von ASOs beschränken, da selbst dieses Spezialgebiet sehr umfangreich geworden ist und die klinischen ASO-Studien in rascher Folge zunehmen [3, 27].

» ASOs können die Biosynthese von Proteinen bei ihrer Entstehung verändern

Antisense-Oligonukleotide sind kurze Nukleinsäuren, die als einzelsträngige DNA-Moleküle synthetisiert werden können mit einer Länge von 18 bis 30 Basenpaaren. Antisense nimmt darauf Bezug, dass die Basensequenz entgegengesetzt („antisense“) zu einer funktionalen mRNA ist. Das ASO bindet über Watson-Crick-Basenpaarung an eine komplementäre („Sense“-)RNA. Im Gegensatz zum Wirkmechanismus vieler Arzneistoffe, denen die Funktionshemmung von Proteinen zugrunde liegt, können ASOs die Biosynthese von Proteinen bei ihrer Entstehung verändern.

Das Konzept, Antisense-Nukleotide zu benutzen, entstand zuerst in den späten 1970er-Jahren für Therapien viraler Erkrankungen und in kurzer Folge auch für die Krebstherapie. 1998 wurde Fomiviren für die Therapie der Zytomegalievirus(CMV)-Retinitis bei HIV-Patienten zugelassen [18]. In den letzten 20 Jahren hat die ASO-Therapie für neurologische Erkrankungen große Fortschritte gemacht, hauptsächlich durch chemische Modifizierungen der ASOs.

ASO-Wirkungsweise

ASOs können grundsätzlich auf 2 Wegen wirken (■ **Abb. 1**):

- Durch Bindung in der Nähe einer „splice-site“ (Spleißstelle) kann ein ASO den Ein- oder Ausschluss eines Exons beeinflussen [5, 11, 13, 17, 21, 28]. Dieser Mechanismus ist für die Therapie der spinalen Muskelatrophie (SMA) und spezifischer Duchenne-Muskeldystrophie(DMD)-Mutationen wichtig.
- Des Weiteren kann ein ASO die RNA so binden, dass ein DNA:RNA-Heteroduplex entsteht, der dann von dem Enzym RNase H erkannt wird und zur Zerstörung der respektiven RNA führt [2, 4, 9, 15, 19, 20, 24, 26, 29]. Das ASO selbst wird nicht zerstört, da RNase H nur RNA angreifen kann.

Die spezifische Wirkungsweise hängt von der Zielsequenz („target sequence“) und der chemischen Modifikation des ASOs ab [3, 27].

ASO-Modifikationen

Unmodifizierte Nukleinsäuren können von Nukleasen attackiert werden und eine geringe Proteinbindung kann zu einer schlechten Gewebeaufnahme führen. ASOs enthalten oft Modifikationen am Phosphatgerüst, der Zuckereinheit und der Nukleotidbase (■ **Abb. 2**). Alle 3 Komponenten können modifiziert werden, sodass theoretisch viele verschiedene Moleküle synthetisiert werden können [3, 6, 14, 27]. Chemische Modifikationen können die Halbwertszeit verlängern, die Aufnahme in Zellen verbessern und die Toxizität verringern.

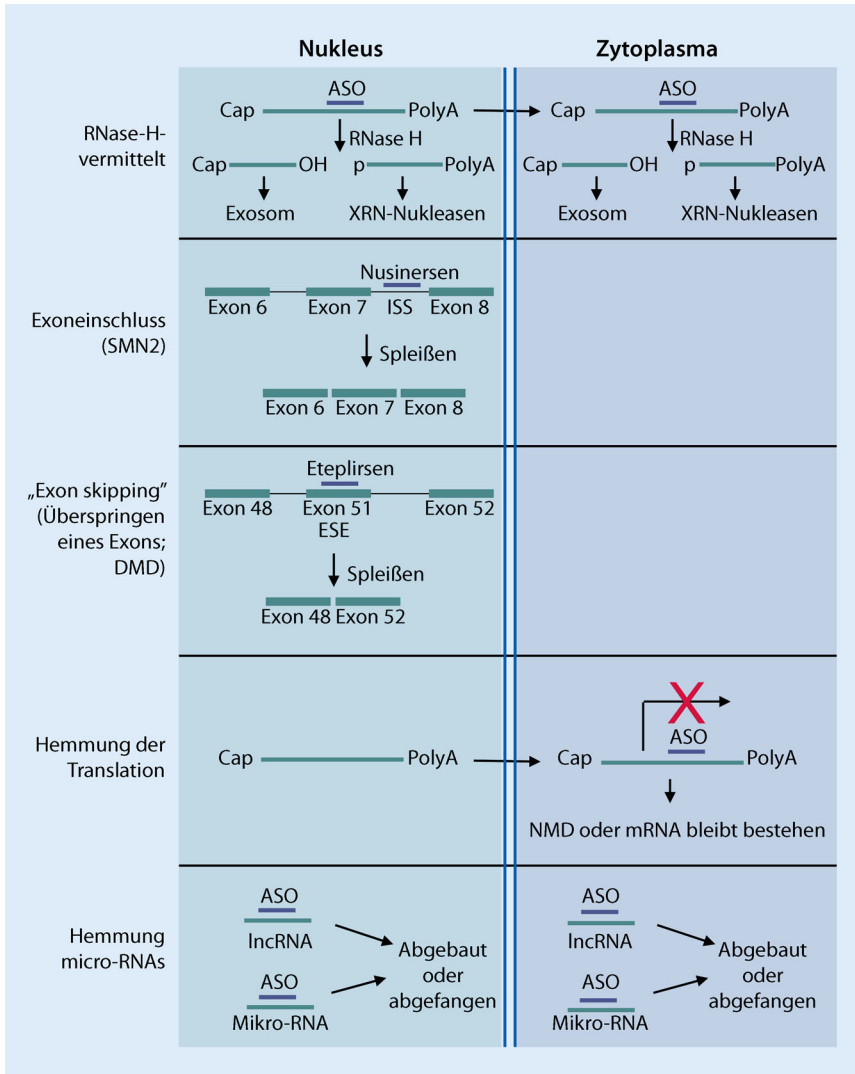


Abb. 1 ▲ Wirkmechanismus der ASO. ASO Antisense-Oligonukleotid, ESE „exonic splicing enhancer“, ISS „intronic splicing silencer“, IncRNA lange nichtcodierende RNA, NMD „nonsense-mediated mRNA decay“ (durch ein zu frühes Stoppcodon vermittelter mRNA-Abbau; Adaptiert nach [27])

Viele RNase-H-ASOs sind als Chimären konzipiert, die eine Phosphorothioat(PS)-Modifikation an der ASO-Hauptkette enthalten und die Endnucleotide durch eine 2'-O-Methoxyethyl(2'MOE)-Gruppe modifizieren.

» Für ZNS-Erkrankungen müssen ASOs in den Liquor injiziert werden

Wenn die verschiedenen Basen eine Mischung verschiedener Modifikationen sind, werden die ASOs als „Mixmers“ bezeichnet. Wenn die Basen an beiden Enden des ASO Modifikationen aufweisen, die den zentralen Basen feh-

len, werden die ASOs als „Gappers“ bezeichnet.

Antisense-Oligonucleotide können die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren und müssen für Erkrankungen des Zentralnervensystems (ZNS) in den Liquor injiziert werden. Die Aufnahme in Zellen ist ein aktiver Prozess, der aber im Detail noch nicht genau verstanden ist. Die intrazelluläre ASO-Konzentration hängt von der Distanz zum Liquorraum und dem Zelltyp ab. PS-modifizierte ASOs haben eine Gewebelbaltzeit von Tagen, während diese bei Gappers Wochen beträgt.

FDA- oder EMA-genehmigte Therapien

Momentan haben 3 ASOs die Zulassung der US-amerikanischen Arzneimittelbehörde FDA und/oder der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) für neurologische Indikationen erhalten (Tab. 1).

Nusinersen

Nusinersen ist ein in den USA und Europa zugelassenes ASO für Kinder wie auch Erwachsene mit SMA [10, 11, 21]. SMA wird durch biallelische Mutationen im SMN1-Gen verursacht, die zum Funktionsverlust des Proteins führen. Durch Genduplikation ist ein fast identisches, paraloges Gen, SMN2, entstanden. Die beiden Proteine unterscheiden sich hauptsächlich durch die Exklusion des Exon 7 im SMN2-Protein.

Nusinersen ist ein vollständig MOE-modifiziertes ASO mit einer Länge von 18 Nucleotiden. Nusinersen paart mit dem intronischen Splice-Silencing-Site-1 im Intron 7 der SMN2-prä-mRNA, sodass es zum Einschluss des Exons 7 kommt und so zu einem Protein, das die Funktion des SMN1-Proteins ersetzen kann.

Nusinersen wird nach einer initialen Anreicherungsphase in regelmäßigen Abständen per Lumbalpunktion in die Zerebrospinalflüssigkeit injiziert. Obwohl die Therapie im Allgemeinen gut toleriert wird, geben Strahlungsdosis und die Entwicklung von Hydrozephalus Anlass zur Vorsicht [22, 25]. Es gilt als eines der teuersten Arzneimittel mit Kosten von 750.000 US-Dollar im ersten Jahr und danach mit jährlichen Kosten von 350.000 US-Dollar.

Etiplirsen

Die DMD wird durch Mutationen im Dystrophin-Protein hervorgerufen. Die meisten DMD-Mutationen führen zum Funktionsverlust des Dystrophin-Proteins durch Deletionen, die den Leserahmen („reading frame“) verändern.

Etiplirsen ist ein Phosphorodiamidat-Morpholino-Oligomer (PMO), das statt der Ribose einen Morpholinring und an Stelle des Phosphodiesters – einen

Phosphorodiamidat-Linker enthält [17]. Eteplirsen zielt auf ungefähr 15% der DMD-Mutationen, die den Leserahmen verändern. Bei ungefähr 15% der DMD-Mutationen stellt es die Dystrophin-Expression wieder her, indem das Exon 51 in der prä-mRNA beim Splicing entfernt wird (Exon-Skipping). Dies stellt den nachgeschalteten Leserahmen wieder her und bildet so ein verkürztes Dystrophin mit partieller Funktion. Eteplirsen wird durch intravenöse Infusion verabreicht. Eteplirsen erhielt 2016 eine beschleunigte und kontroverse Zulassung durch die FDA, während in Europa die Zulassung verweigert wurde [3, 17].

Inotersen

Die familiäre Amyloidneuropathie (FAP) wird durch dominante Mutationen im Transthyretin(TTR)-Gen hervorgerufen. Träger von TTR-Mutationen haben oft auch Kardiomyopathien und gastrointestinale Symptome. Die Überlebenszeit nach Symptombeginn reicht von 4 bis zu 20 Jahren.

Inotersen ist ein Gapmer mit 5 2'-MOE-Nukleotiden an den 5'- und 3'-Enden und 10 Oligonukleotiden in der Mitte, die eine RNase-H1-Wirkung ermöglichen. In klinischen Phase-3-Studien mit wöchentlicher subkutaner Injektion von Inotersen verbesserten sich Parameter der Neuropathie [4]. Einige Patienten entwickelten Thrombozytopenien und Glomerulonephritiden. Inotersen ist in den USA und Europa zugelassen.

ASO-Therapien in Phase-1, -2- oder -3-Studien

Antisense-Oligonukleotide in klinischen Studien sind in der **Tab. 1** aufgelistet. Die gerade initiierte Phase-3-Studie von RG6042 mit einem Gapmer-ASO wird testen, ob die Reduzierung mutierter Formen von Huntingtin (mHTT) die motorischen und kognitiven Symptome von Individuen mit Huntington-Chorea (HD) verbessert.

Ergebnisse der Phase-1/2-Studie bei Erwachsenen mit HD hatten gezeigt, dass RG6042 die mHTT-Liquorkonzentrationen um 60% reduzieren konnte [16]. Dies könnte einer Reduktion von 20–50% im

Nucleus caudatus entsprechen. RG6042 paart sich auch mit der normalen HTT-RNA, was eventuell zu Nebenwirkungen führen könnte, da HTT wichtige Funktionen in Nervenzellen hat.

Wave Life Sciences und Takeda entwickeln ASOs, die spezifisch auf mHTT-RNA zielen. WVE-120101 und WVE-120102 paaren mit SNPs, die im Kopplungsgleichgewicht („linkage disequilibrium“) mit der CAG-Triplett-Wiederholung sind und so die normale HD-mRNA nicht beeinflussen.

ASOs in präklinischer Entwicklung

Die präklinische Entwicklung beginnt normalerweise mit In-vitro-Screening in einer Zelllinie. Diese wird so gewählt, dass sie leicht mit einem ASO transfiziert werden kann und eine gute Expression der Ziel-RNA zeigt. In unserer Arbeitsgruppe haben wir ASO-Technologien für die Therapie von spinocerebellärer Ataxie (SCA) 2 entwickelt und sekundär für die amyotrophe Lateralsklerose (ALS; [2, 26]). SCA2 wird durch eine Expansion in einer Triplettwiederholung des Codons CAG im *ATXN2*-Gen verursacht. Triplettwiederholungen im oberen Normalbereich sind auch ein Risikofaktor für ALS [2, 23].

Nach In-vitro-Tests von 150 ASOs in Hep2-Zellen fanden wir 15, die den *ATXN2*-Spiegel um mehr als 80% senkten. Der nächste Schritt beinhaltete das Testen in vivo durch Injektion von ASOs in den lateralen Ventrikel der Maus und Messen der *ATXN2*-RNA-Menge mittels der quantitativen Polymerasekettenreaktion (qPCR). Die In-vivo-Tests erlaubten auch, die Aktivierung von Glia und Mikroglia durch qPCR zu bestimmen, die bei bestimmten ASOs auftreten kann und eine Benutzung des respektiven ASOs ausschließt. Wir testeten das beste ASO in 2 SCA2-Maus-Modellen, die einen progredienten zerebellären Phänotyp zeigen [8, 12]. Nach einer einmaligen Injektion in symptomatische Mäuse in der 8. Lebenswoche verlangsamte sich die Progredienz und in der 23. Woche betrug die Reduktion der *ATXN2*-mRNA noch über 70%. In Zusammenarbeit mit Ionis Pharmaceuticals (Carlsbad, USA)

Nervenarzt
<https://doi.org/10.1007/s00115-019-0724-4>
 © Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2019

S. Pulst

Antisense-Therapie neurologischer Erkrankungen

Zusammenfassung

In den letzten Jahrzehnten sind viele Gene neurodegenerativer Krankheiten kloniert worden. Trotzdem wurden Therapien dafür nur langsam entwickelt. Der vielleicht bedeutendste Vorteil der „antisense oligonucleotide therapeutics“, der sog. ASO-Therapeutika, gegenüber anderen Ansätzen besteht darin, dass die Kenntnis der Genzielsequenz unmittelbar Wissen über mögliche Komplementär-Oligonukleotid-Therapeutika vermittelt. In dieser Übersichtsarbeit beschreiben wir die verschiedenen Arten von ASOs, ihre therapeutische Verwendung und die derzeitigen präklinischen Bemühungen zur Entwicklung neuer ASO-Therapien.

Schlüsselwörter

Antisense-Oligonukleotide · Amyotrophe Lateralsklerose · Morbus Alzheimer · Spinocerebelläre Ataxie · *ATXN2*

Antisense therapies for neurological diseases

Abstract

Despite identification of many genes causing neurodegenerative diseases in the last decades, development of disease-modifying treatments has been slow. Antisense oligonucleotide (ASO) therapeutics for spinal muscular atrophy, Duchenne muscular dystrophy and transthyretin amyloidosis predict a robust future for ASOs in medicine. Perhaps the most significant advantage of ASO therapeutics over other small molecule approaches is that acquisition of the target sequence provides immediate knowledge of possible complementary oligonucleotide therapeutics. This review article describes the various types of ASOs, their therapeutic use and the current preclinical efforts to develop new ASO treatments.

Keywords

Antisense oligonucleotide · Amyotrophic lateral sclerosis · Alzheimer disease · Spinocerebellar ataxia · *ATXN2*

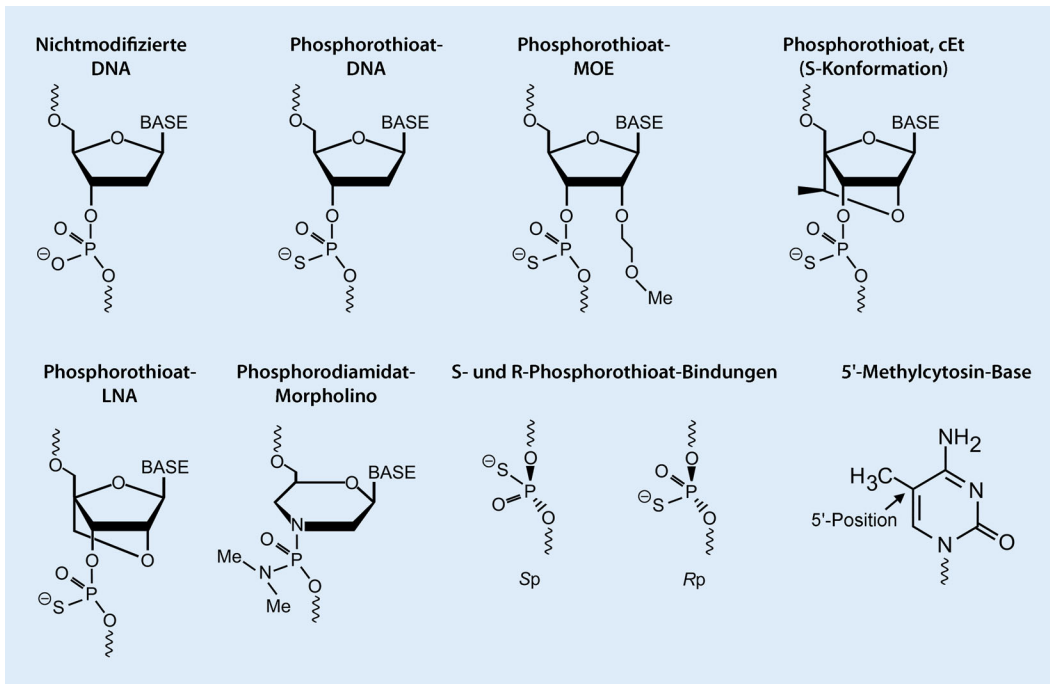


Abb. 2 ◀ Chemische Modifikationen der Antisense-Oligonukleotide. *cEt* „constrained ethyl“ (beschränkende Ethylgruppe), *LNA* „locked nucleic acid“ („versperrte“ Nukleinsäure), *MOE* 2'-O-Methoxyethyl-Rest. (Adaptiert nach [27])

Tab. 1 FDA-zugelassene ASO-Therapeutika für neurologische Erkrankungen und ASO-Therapeutika in klinischen Studien

Therapeutikum	Indikation	Ziel	ASO-Chemie	Status
Nusinersen	Spinale Muskelatrophie	<i>SMN2</i> , Exon-7-Inklusion	Vollständig 2'-MOE-modifiziertes ASO	Zugelassen
Eteplirsen	Duchenne-Muskeldystrophie	<i>DMD</i> , Exon-51-Skipping	Morpholino	Zugelassen
RG6042	Huntington-Chorea	<i>HTT</i> -Expression	ASO-MOE-Gapmer	Phase-3-KS
WVE-210201	Duchenne-Muskeldystrophie	<i>DMD</i> , Exon-51-Skipping	„Stereopure“ ASO	Phase-1-KS
WVE-120101	Huntington-Chorea	<i>HTT</i> -Expression	„Stereopure“ ASO	Phase-1/2-KS
WVE-120102	Huntington-Chorea	<i>HTT</i> -Expression	„Stereopure“ ASO	Phase-1/2-KS
IONIS-MAPTRx	Morbus Alzheimer	<i>Tau</i> -Expression	ASO-MOE-Gapmer	Phase-1/2-KS
IONIS-C9Rx (BIIB078)	Amyotrophe Lateralsklerose	<i>C9ORF72</i> -Expression	ASO-MOE	Phase-1-KS
IONIS-SOD1Rx (BIIB067)	Amyotrophe Lateralsklerose	<i>SOD1</i> -Expression	ASO-MOE-Gapmer	Phase-1-KS

ASO „antisense oligonucleotide therapeutics“, *DMD* Duchenne-Muskeldystrophie, *FDA* U. S. Food and Drug Administration, *HTT* Huntingtin, *KS* klinische Studie, *MOE* Methoxyethyl

arbeiten wir an einer Verbesserung des ATXN2-ASOs mit dem Plan für eine Phase-1-Studie in den nächsten Jahren.

Einen sehr ähnlichen Weg nimmt momentan die präklinische Entwicklung für *C9ORF79*-Erkrankungen [15], *SCA3* [20, 28], *SCA7* [24], *MAPT* [9], *LRKK2* [29] und *SCNA* [1]. Die Besonderheit für *SCA7* war, dass der retinale Phänotyp untersucht wurde. Injektion von ASOs gegen *ATXN7* in den Glaskörper konnte selbst bei schon symptomatischen Mäusen retinale Veränderungen verbessern.

Entwicklungen in den nächsten Jahren

In den nächsten Jahren werden wir ASOs in der präklinischen und klinischen Entwicklung für viele neurologische Erkrankungen sehen. Die momentan entwickelten ASOs werden fast alle intrathekal injiziert werden müssen, obwohl Konjugation der ASOs mit anderen Molekülen neue Wege öffnen werden [1, 7]. Wir werden neue Nebenwirkungen sehen, die auf Interaktionen von ASOs mit anderen RNAs, Proteinen, Lipiden und zellulären Organellen beruhen. Die unterschiedliche Aufnahme von ASOs in verschiedenen Neuronengruppen kann

unter Umständen zu neuen Phänotypen führen. Es ist auch möglich, dass neue Symptome außerhalb des ZNS auftreten, die vorher nicht beobachtet wurden, da Patienten nicht lange genug überlebten. Wie die Behandlung der Transthyretin-Amyloidose und der SMA gezeigt hat, werden auch andere Arten der RNAi der ASO-Therapie Konkurrenz machen können.

Fazit für die Praxis

- Drei Antisense-Oligonukleotide (ASOs) haben die Zulassung der FDA und/oder der EMA für neurologische Indikationen erhalten:

- Nusinersen ist für Kinder und Erwachsene mit spinaler Muskelatrophie zugelassen. Die Therapie wird im Allgemeinen gut toleriert.
- Eteplirsen zielt auf Mutationen bei der Duchenne-Muskeldystrophie (DMD), die den Leserahmen verändern. Bei ungefähr 15% der DMD-Mutationen stellt es eine teilweise Dystrophin-Expression wieder her.
- Inotersen wird bei familiärer Amyloidneuropathie eingesetzt.
- Klinische Phase-1/2-Studien befassen sich mit der Frage, ob die Reduzierung mutierter Formen von Huntingtin (mHTT) die motorischen und kognitiven Symptome von Individuen mit Huntington-Chorea (HD) verbessert.
- In der präklinischen Entwicklung befinden sich ASO-Technologien für die Therapie von spinocerebellärer Ataxie 2 und amyotrophe Lateralsklerose

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Stefan-M. Pulst

Department of Neurology, University of Utah
CNC Building, 5th Floor, 175 N Medical Drive E,
84132 Salt Lake City, UT, USA
stefan.pulst@hsc.utah.edu

Danksagung. Diese Arbeit wurde unterstützt durch Forschungsvorhaben R21NS081182, R37NS033123 und U01NS103883 der National Institutes of Health (USA). Der Autor dankt cand. med. T.J. Pulst und Dr. Maria C. Wolpers für kritisches Lesen des Manuskriptes.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. S.-M. Pulst erhält Lizenzgebühren von der University of Utah, Cedars-Sinai Medical Center, und von der American Academy of Neurology. Er ist Mitbesitzer eines Patentes für ATXN2 ASOs mit Ionis Pharmaceuticals. Er ist Mitbegründer von Progenitor Lifesciences.

Für diesen Beitrag wurden vom Autor keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Literatur

1. Alarcón-Aris D, Recasens A, Galofre M et al (2018) Selective alpha-Synuclein knockdown in Monoamine neurons by Intranasal Oligonucleotide delivery: potential therapy for parkinson's disease. *Mol Ther* 26(2):550–567
2. Becker LA, Huang B, Bieri G et al (2017) Therapeutic reduction of ataxin-2 extend lifespan and reduces pathology inTD-43 mice. *Nature* 544(7650):367–371
3. Bennet CF (2019) Therapeutic Antisense Oligonucleotides are coming of age. *Annu Rev Med* 70:307–321
4. Benson MD, Waddington-Cruz M, Berk JL et al (2018) Inotersen treatment for patients with hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med* 379(1):22–31
5. Chang JL, Hinrich AJ, Roman B et al (2018) Targeting Amyloid-beta precursor protein, APP, splicing with Antisense Oligonucleotides reduces toxic Amyloid-beta production. *Mol Ther* 26(6):1539–1551
6. Crooke ST, Wang S, Vickers TA et al (2017) Cellular uptake and trafficking of antisense oligonucleotides. *Nat Biotechnol* 35(3):230–237
7. Crooke ST, Baker BF, Xia S et al (2019) Integrated assessment of the clinical performance of GalNA₃-conjugated 2'-O-Methoxyethyl chimeric Antisense Oligonucleotides: I. Human volunteer experience. *Nucleic Acid Ther* 29(1):16–32
8. Dansithong W, Paul S, Figueroa KP et al (2015) Ataxin-2 regulates RGS8 translation in a new BAC-SCA2 transgenic mouse model. *Plos Genet* 11(4):e1005182
9. DeVos SL, Miller RL, Schoch KM et al (2017) Tau reduction prevents neuronal loss and reverses pathological tau deposition and seeding in mice with tauopathy. *Sci Transl Med* 9(374):eaag481
10. De Vivo DC, Hwu W-L, Reyna SP et al (2017) Interim efficacy and safety results from the phase 2 Nurture study evaluating Nusinersen in presymptomatic infants with spinal muscular atrophy. *Baillieres Clin Neurol* 88(16 Suppl):46.003
11. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT et al (2017) Nusinersen versus sham control in infantile-onset spinal muscular atrophy. *N Engl J Med* 377(18):1723–1732
12. Hansen ST, Meera P, Otis TS, Pulst SM (2013) Changes in Purkinje cell firing and gene expression precede behavioral pathology in a mouse model of SCA2. *Hum Mol Genet* 22(2):271–283
13. Hinrich AJ, Jodelka FM, Chang JL et al (2016) Therapeutic correction of ApoER2 splicing in Alzheimer's disease mice using antisense oligonucleotides. *Embo Mol Med* 8(4):328–345
14. Iwamoto N, Butler DCD, Svrzikapa N et al (2017) Control of phosphorothioate stereochemistry substantially increases the efficacy of antisense oligonucleotides. *Nat Biotechnol* 35(9):845–851
15. Jiang J, Zhu Q, Gendron TF et al (2016) Gain of toxicity from ALS/FTD-linked repeat expansions in C9ORF72 is alleviated by Antisense Oligonucleotides targeting GGGGCC-containing RNAs. *Neuron* 90(30):535–550
16. Lane RM, Smith A, Baumann T et al (2018) Translating Antisense technology into a treatment for Huntington's disease. *Methods Mol Biol* 1780:497–523
17. Lim KR, Maruyama R, Yokota T (2017) Eteplirsen in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Drug Des Devel Ther* 11:533–545
18. Marwick C (1998) First "antisense" drug will treat CMV retinitis. *JAMA* 280(10):871
19. McCampbell A, Cole T, Wegener AJ et al (2018) Antisense oligonucleotides extend survival and reverse decrement in muscle response in ALS models. *J Clin Invest* 128(8):3558–3567
20. McLoughlin HS, Moore LR, Chopra R et al (2018) Oligonucleotide therapy mitigates disease in spinocerebellar ataxia type 3 mice. *Ann Neurol* 84(1):64–77
21. Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA et al (2018) Nusinersen versus sham control in later-onset spinal muscular atrophy. *N Engl J Med* 378(7):625–635
22. Michelson D, Ciafaloni E, Ashwal S et al (2018) Evidence in focus: Nusinersen use in spinal muscular atrophy. *Baillieres Clin Neurol* 91(20):923–933
23. Neuenschwander AG, Thai KK, Figueroa KP et al (2014) Amyotrophic lateral sclerosis risk for spinocerebellar ataxia type 2 ATXN2 CAG repeat alleles: a meta-analysis. *Jama Neurol* 71(12):1529–1534
24. Niu C, Prakash TP, Kim A et al (2018) Antisense oligonucleotides targeting mutant Ataxin-7 restore visual function in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 7. *Sci Transl Med* 10(465):eaap8677
25. Oldenburg D, Guberina N, Stolte B et al (2019) Radiation exposure of image-guided intrathecal administration of nusinersen to adult patients with spinal muscular atrophy. *Neuroradiology* 61(5):565–574. <https://doi.org/10.1007/s00234-019-02189-x>
26. Scoles DR, Meera P, Schneider MD et al (2017) Antisense oligonucleotide therapy for spinocerebellar ataxia type 2. *Nature* 554(7650):362–366
27. Scoles DR, Minikel EV, Pulst SM (2019) Antisense oligonucleotides: a primer. *Neurol Genet* 5:e323
28. Toonen LJA, Rigo F, van Attikum H et al (2017) Antisense Oligonucleotide-mediated removal of the Polyglutamine repeat in spinocerebellar ataxia type 3 mice. *Mol Ther Nucleic Acids* 8:232–242
29. Zhao HT, John N, Delic V et al (2017) LRRK2 Antisense Oligonucleotides ameliorate alpha-Synuclein inclusion formation in a parkinson's disease mouse model. *Mol Ther Nucleic Acids* 8:508–519