

Gentherapie – Medizin der Zukunft? ¹

Jakob Körbelin

In Reaktion auf die ersten bahnbrechenden Erkenntnisse der modernen Genetik wurde gegen Mitte des 20. Jahrhunderts ein Konzept formuliert, welches gleichermaßen simpel wie bestechend ist – die Gentherapie. Verschiedenste Erkrankungen, von schwerwiegenden frühkindlichen Entwicklungsstörungen bis hin zu den im Laufe des Lebens erworbene Krebsleiden, finden ihre Ursache in den Genen. Sollte es möglich sein, solche Erkrankungen direkt auf genetischer Ebene zu behandeln? Könnte ein „fehlerhaftes“ Gen durch eine korrekte Variante ausgetauscht werden? Wie könnte eine solche Behandlung in der Klinik umgesetzt werden? Gentherapie ist die Disziplin, die sich mit diesen und weiteren Fragestellungen auseinandersetzt. Nach anfänglich überschwänglicher Euphorie gefolgt von einigen schweren Tiefschlägen und einer Phase des Stillstands ist die Gentherapie derzeit erfolgreich dabei, das experimentelle Stadium zu verlassen und in die klinische Phase überzutreten. Dies zeigt sich nicht nur in den weltweit etwa 2500 bisher durchgeführten klinischen Gentherapiestudien, sondern ebenso eindrucklich in der Zulassung erster kommerzieller gentherapeutischer Arzneimittel auf US-amerikanischem und europäischem Boden. Dennoch sind auch heute nicht alle technische Hürden überwunden, die einer breiten Anwendung der Gentherapie im Wege stehen. So gibt es bei dem Transfer der therapeutischen Gene in den Patienten weiterhin Bedarf nach geeigneten sogenannten „Genfähren“ oder „Genvektoren“. Im Rahmen des Vortrags sollen das Konzept der Gentherapie in allgemeinverständlicher Form erläutert und die aktuellen Fortschritte auf dem Gebiet der Gentherapie beleuchtet werden.

Das menschliche Genom

In der Regel enthält jede einzelne unserer Zellen zwei Kopien der gesamten Bauanleitung für unseren Körper. Diese unsere eigene Bauanleitung - unser Genom - ist in Form eines riesigen Moleküls, der sogenannten Desoxyribonukleinsäure (alt: DNS, heute gebräuchlich die englische Abkürzung: DNA) gespeichert. Die DNA ist aus relativ wenigen unterschiedlichen molekularen Bausteinen zusammengesetzt, die extrem lange (insgesamt etwa 1,8 m) und sehr dünne Fäden (2 nm = 2 milliardstel Meter) bilden, welche aufgeknäult und portioniert als sogenannte Chromosomen im Kern unserer Zellen vorliegen. Dabei sind die einzelnen Moleküle eines bestimmten Zuckers, der Desoxyribose, über Phosphatreste miteinander zu langen Ketten verknüpft. An diese Zuckerphosphatketten sind in variabler Abfolge unzählige Kopien von vier verschiedenen Nukleobasen (Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin) gebunden. Die in diesen langen Ketten gespeicherte Information wird durch die genaue Abfolge der vier unterschiedlichen Nukleobasen bestimmt. Im menschlichen Genom wird diese Abfolge von insgesamt etwa 3 Milliarden Nukleobasen gebildet. Dabei codieren in bestimmten Bereichen der DNA jeweils drei aufeinander folgende Nukleobasen eine Aminosäure. Aminosäuren wiederum bilden die Grundbausteine der Proteine, die selber entweder Baustoffe für unsere Zellen und damit unseren gesamten Körper sind oder die als molekulare Fabriken (Enzyme) die Synthese von weiteren essentiellen Bestandteilen des Körpers gewährleisten und den Stoffwechsel ermöglichen. Die einzelnen Abschnitte unseres Genoms, die jeweils die Bauanleitung für ein Protein sowie dazugehörige molekulare Schalter beinhalten, nennt man Gene. Der Aufbau eines Gens ist schematisch in **Abbildung 1** dargestellt.

¹ Vortrag im Rahmen der Dienstagsvorträge der Gemeinnützigen von Jakob Körbelin am 06. November 2018 im Großen Saal der Gemeinnützigen in Lübeck

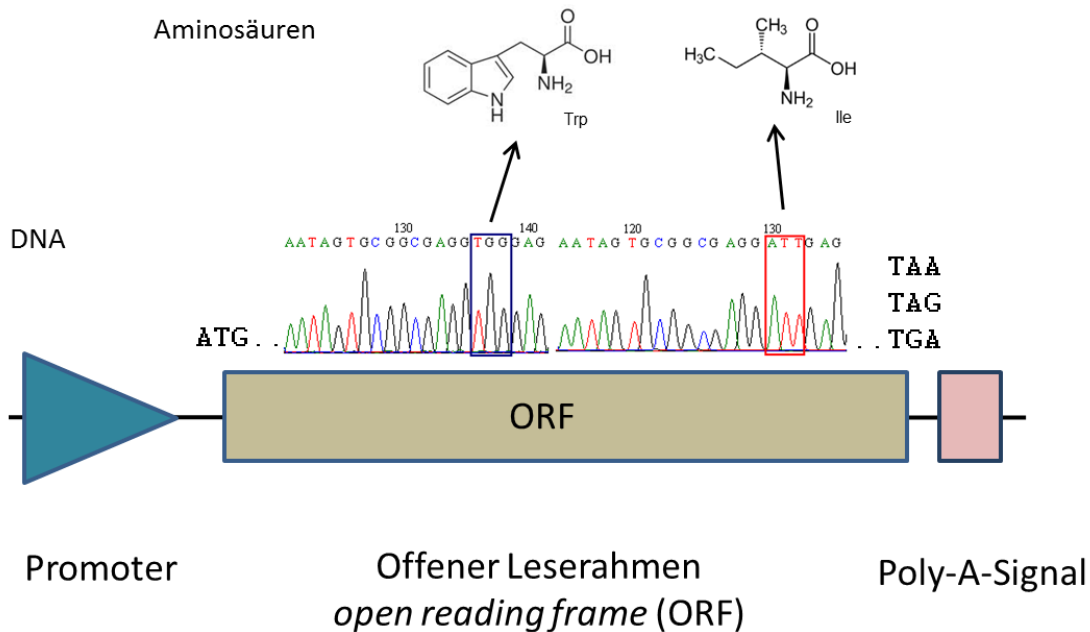


Abb. 1. Schematischer Aufbau eines Gens. Ein durchschnittliches Gen besteht aus einem offenen Leserahmen (ORF), in welchem die Bauanleitung für ein bestimmtes Protein im Triplet-basierten genetischen Code gespeichert ist. Der ORF beginnt fast immer mit den drei Nukleobasen „Adenin, Thymin und Guanin“ (ATG), dem sogenannten Start-Codon und endet mit einer der drei Nukleobasen-Abfolgen „Thymin, Adenin, Adenin“ (TAA), „Thymin, Adenin, Guanin“ (TAG) oder „Thymin, Guanin, Adenin“ (TGA), den drei möglichen Stopp-Codons. Die DNA wird allerdings nicht direkt in Proteine „translatiert“, sondern zuvor in einem Zwischenschritt zu sogenannter Boten-Ribonukleinsäure (mRNA) „transkribiert“ (nicht abgebildet). Zu diesem Zweck gehört zu jedem Gen ein „molekularer Schalter“, der sogenannte Promoter, an welchen entsprechende Enzyme (DNA-abhängige RNA-Polymerasen) andocken können, um anhand der DNA-Vorlage zunächst ein Molekül der mRNA zu synthetisieren. Die mRNA wird anschließend als Vorlage genutzt, Aminosäuren entsprechend des genetischen Codes aneinander zu heften und zu Proteinen zusammenzubauen. Dabei codiert jeweils ein Triplet, also die Abfolge von drei Nukleobasen, für eine Aminosäure. Beispielsweise codiert das Triplet-Codon „TGG“ für die Aminosäure Tryptophan (Trp) oder das Triplet-Codon AAT für die Aminosäure Isoleucin (Ile).

Jeder Mensch häuft im Laufe seines Lebens kleine Fehler, sogenannte Mutationen, in seinem Genom an. Ab und an werden solche Mutationen vererbt. Einige dieser Mutationen wirken sich auf die Funktionalität der betroffenen Gene bzw. der in den Genen codierten Proteinen aus oder sorgen dafür, dass bestimmte Proteine vom Körper gar nicht erst synthetisiert werden. Das Fehlen essentieller Proteine oder das Auftreten von Proteinen mit Fehlfunktionen kann zur Entstehung einer Krankheit führen. Tatsächlich ist eine riesige Anzahl an Erkrankungen direkt oder indirekt auf genetische Mutationen zurückzuführen. Zu den teilweise sehr schwerwiegenden Erkrankungen, die unmittelbar auf genetische Mutationen bzw. daraus resultierende Proteindefekte oder -mangel zurückzuführen sind, gehören beispielsweise die Gruppe der lysosomalen Speicherkrankheiten (bei denen es u.a. in den Neuronen des Gehirns zu einer Ansammlung toxischer Stoffwechselprodukte kommt, was häufig zum Tod der Betroffenen im Kleinkindalter führt), die Bluterkrankheit (bei der die Blutgerinnung z.B. im Falle einer Verletzung nicht richtig funktioniert), verschiedene Formen von Immundefekten (bei denen der Körper sich nicht gegen Krankheitserreger zu wehren vermag), die Mukoviszidose und viele, viele weitere Leiden. Krebserkrankungen sind ebenfalls auf genetische Mutationen zurückzuführen, wobei die Mutation beim Krebs zu einem unkontrollierten Wachstum der betroffenen Zelle und ihrer Tochterzellen führt. Andere Erkrankungen wie beispielsweise bestimmte Formen des Diabetes oder der Alzheimererkrankung können genetische Komponenten beinhalten, das heißt bestimmte Mutationen des Genoms können in diesen Fällen eine Rolle bei der Krankheitsentstehung spielen.

Entwicklung der Gentherapie

Unter Gentherapie verstehen wir den Einsatz von Nukleinsäuren in Form von DNA oder der verwandten RNA, welche in Zellen eingeschleust wird, um diese genetisch zu verändern. Meist ist das Ziel, genetisch bedingten Erkrankungen direkt auf genetischer Ebene zu korrigieren. Im einfachsten Fall kann das bedeuten, ein mutiertes bzw. fehlerhaftes Gen in den von der Erkrankung betroffenen Zellen des Patienten durch eine korrekte Kopie des Gens zu ersetzen. Technisch anspruchsvoller ist das Ersetzen von Genabschnitten oder das Reparieren von Mutation direkt im Patientengenom z.B. mittels neuartiger Techniken wie der molekularen Schere „CRISPR/Cas“. Auch das Ein- oder Ausschalten von Genen, das Einbringen von kompensatorisch wirkenden „Ersatzgenen“ oder von sogenannten „Selbstmordgenen“ im Zuge beispielsweise einer Krebstherapie sind mögliche Formen der Gentherapie.

Der heutige Einsatz der Gentherapie wurde erst durch die relativ rasante Entwicklung der modernen Genetik innerhalb des letzten Jahrhunderts ermöglicht. Vor ziemlich genau 100 Jahren wurden von dem litauischen Biochemiker Phoebus Aaron T. Levene die Desoxyribose und die Nukleobasen als die Einzelbestandteile der innerhalb des Zellkerns lokalisierten DNA identifiziert. 1943/44 identifizierte der kanadische Arzt Oswald T. Avery die DNA erstmalig als Träger der genetischen Information. Man war zuvor davon ausgegangen, dass diese Rolle von den komplexeren Proteinen übernommen wird. Mitte des 20. Jahrhunderts folgten die berühmten Experimente des britischen Physikers und Molekularbiologen Francis H. C. Crick, der zusammen mit dem US-amerikanischen Molekularbiologen James D. Watson und dem neuseeländischen Physiker Maurice H. F. Wilkins, aufbauend auf Röntgenstrukturanalysen der britischen Biochemikerin Rosalind E. Franklin, die Doppelhelix-Struktur der DNA aufklären konnte. 1961 begann der deutsche Biochemiker Heinrich Matthaei den Triplet-basierten genetischen Code zu entschlüsseln und 1966 wurde vom US-amerikanischen Genetiker Edward L. Tatum erstmalig das Konzept der Gentherapie postuliert, welches er „*eugenic engineering*“ nannte (**Abb. 2**). Bis zur ersten klinischen Gentherapie-Studie mit menschlichen Patienten sollten ein weiteres Vierteljahrhundert vergehen, eine Zeitspanne die benötigt wurde, um die Erkenntnisse der Genetik zu vertiefen und die notwendigen modernen molekularbiologischen Techniken zu entwickeln.

Die ersten Patientinnen, die sich 1990 in den USA einer Gentherapie unterzogen, waren zwei Mädchen mit einer schweren angeborenen Immunschwäche, auf die wir später noch einmal zu sprechen kommen werden. In der Folge kam es zu einer Flut an weiteren klinischen Studien zur Gentherapie, vielfach mit ernüchternden Ergebnissen aber auch mit einigen sehr vielversprechenden Erfolgen. Der erste tragische Todesfall eines erst achtzehnjährigen Studienteilnehmers in Folge einer experimentellen Gentherapie im Jahr 1999 an der Universität von Pennsylvania führte zu massiver Kritik und einer schweren Krise dieser noch jungen Disziplin. Obwohl die Ursachen des tödlichen Ausgangs dieses Experiments rasch aufgeklärt werden konnten, sollte dieser Zwischenfall nicht der letzte seiner Art bleiben. Wir werden später noch einmal auf diese Zwischenfälle und mögliche Risiken der Gentherapie zu sprechen kommen.

Molecular biology, nucleic acids, and the future of medicine

E. L. Tatum

Rockefeller University, New York, New York. Perspectives in Biology and Medicine 10:1 (1966), 19-32.

... "Hence, it can be suggested that the first successful genetic engineering will be done with the patient's own cells, for example, liver cells, grown in culture. The desired new gene will be introduced, by directed mutation, from normal cells of another donor by transduction or by direct DNA transfer. The rare cell with the desired change will then be selected, grown into a mass culture, and reimplanted in the patient's liver. ..."

Daher kann vermutet werden, dass das erste erfolgreiche "genetic engineering" mit den eigenen Zellen des Patienten, z.B. Leberzellen, in Zellkultur durchgeführt werden wird. Das gewünschte Gen wird aus gesunden Zellen des Patienten oder eines Spenders ... transferiert werden. Die seltene Zelle, bei der die gewünschte Veränderung stattgefunden hat, wird ausgewählt, in Massenkultur vermehrt und anschließend in die Leber des Patienten reimplantiert werden.



Edward Lawrie Tatum
(14.12.1909 – 05.11.1975)

Bildquelle:
https://de.wikipedia.org/wiki/Edward_Lawrie_Tatum (Zugriff am 07.09.2018)

Abb. 2. Edward L. Tatum und sein Konzept der Genterapie (eugenetic engineering). Der US-Amerikanische Genetiker stellte 1966 sein Konzept der Genterapie auf einem Symposium der Rockefeller University vor. Die von ihm vorgeschlagene Vorgehensweise entspricht in den Grundzügen bereits dem aktuellen Konzept der ex vivo Genterapie.

Trotz einiger schwerer Rückschläge, mehrten sich in den 2000er Jahren die Berichte von außerordentlich erfolgreichen genterapeutischen Interventionen und es kam erstmals zur Heilung von schwerwiegenden Erkrankungen. Im Jahre 2003 wurde in China das weltweit erste kommerzielle Genterapeutikum mit der Bezeichnung *Gendicine* zur Behandlung von Tumoren im Hals- und Nasenbereich zugelassen. Es sollte noch fast ein weiteres Jahrzehnt vergehen, bis 2012 auch in der Europäischen Union die erste kommerzielle Genterapie mit der Bezeichnung *Glybera* zur Behandlung einer extrem seltenen Stoffwechselerkrankung zugelassen wurde (welche sich als sicher aber ineffizient und extrem teuer erwies und daher bereits wieder vom Markt verschwunden ist). Mit den Bezeichnungen *Imlygic*, *Strimvelis*, *Kymriah*, *Yescarta* und *Luxturna* folgten weitere zugelassene Genterapien verschiedener Erkrankungen in der EU und den USA, teilweise mit gutem Heilungserfolg.

Es lässt sich festhalten, dass die Genterapie, die bisher im Wesentlichen durch die öffentliche universitäre Forschung vorangetrieben wurde, zurzeit dabei ist, dass rein experimentelle Stadium hinter sich zu lassen. Die ersten Genterapien wurden von kleineren und spezialisierten Pharmaunternehmen und durch Risikokapital finanzierte universitäre Ausgründungen mit mäßigem kommerziellen Erfolg auf den Markt gebracht. Derzeit steigen die großen Pharmaunternehmen in den Bereich Genterapie ein, um die Möglichkeiten einer erfolgreichen Kommerzialisierung auszuloten, was die weitere Forschung in diesem Gebiet sicherlich beflügeln wird.

Gentransfer mittels viraler Vektoren

Nachdem wir uns einen allgemeinen Überblick über die Hintergründe und die geschichtliche Entwicklung der Genterapie verschafft haben, möchte ich im Folgenden anhand eines konkreten Beispiels aufzeigen, wie die Genterapie funktioniert. Dabei gilt es, zunächst die Frage zu beantworten, wie „therapeutische“ Gene überhaupt in Zellen des Patienten eingeschleust werden können. In der Tat ist das kein ganz triviales Unterfangen, denn Gene können selbstverständlich nicht einfach mittels Skalpell und Pinzette in den Patienten hineinoperiert werden. Tatsächlich sind die Ärzte und Forscher auf Hilfe von außerhalb angewiesen und bedienen sich bestimmter „biologischer Einheiten“ (der Begriff „Mikroorganismen“ mag verständlicher sein, ist in diesem Zusammenhang streng genommen aber nicht korrekt), nämlich der großen Gruppe der Viren. Viren haben sich im Laufe der Jahrtausende evolutionär perfekt darauf spezialisiert, ihr eigenes

Genom in verschiedenen Arten von Zellen einzuschleusen. Sie können mit ihrer Virushülle oder ihrem Viruskapsid an bestimmte Moleküle auf der Zelloberfläche „andocken“ und werden daraufhin von der Zelle aufgenommen. Im Zellinneren wird das Virusgenom freigesetzt und gelangt in den Zellkern. Je nach Virustyp wird das Virusgenom in das Genom der Zelle eingebaut oder es bleibt in nicht-integrierter Form als zusätzliche Information neben dem zellulären Genom bestehen. Dieser Prozess kann - abhängig vom Virus und Zelltyp - außerordentlich effizient sein. Im Labor ist es möglich, künstliche Viren zu erzeugen, bei denen nahezu das komplette virale Genom aus dem Virus entfernt und durch ein (therapeutisches) Gen der Wahl ersetzt wird. Durch den Verlust seiner eigenen viralen Gene verliert das Virus seine pathogenen Eigenschaften - es macht also nicht mehr krank - und das Viruskapsid kann dazu genutzt werden, ein Gen der Wahl in bestimmte Zellen einzuschleusen. Solche zum Gentransfer umgebauten Viren werden als „virale Vektoren“ oder auch „Genfähren“ bezeichnet (**Abb. 3**).

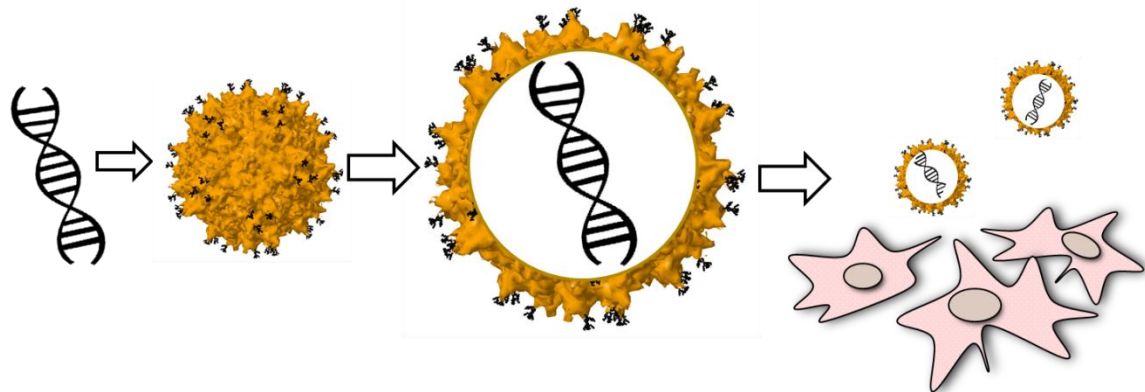


Abb. 3. Schematische Darstellung viraler Vektoren. Nach Entfernen des Virusgenoms wird ein „therapeutisches“ Gen der Wahl in das leere Viruskapsid verpackt. Der so generierte virale Vektor besteht aus dem Äußeren eines Virus (Kapsid + ggf. Hülle) und dem therapeutischen Gen. Der virale Vektor kann im folgenden Schritt dazu verwendet werden, das therapeutische Gen in die zu therapierenden Zellen zu überführen.

Tatsächlich werden heute in etwa 70% der Gentherapiestudien solche viralen Vektoren für den Gentransfer in die Patientenzellen genutzt. Heutige gängige virale Vektoren basieren überwiegend auf dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV), dem Murinen Leukämie-Virus (MLV), dem Adenovirus oder dem Adeno-assoziierten Virus.

Um mittels solcher viraler Vektoren Gene in Zellen des Patienten einzuschleusen, werden die von der Erkrankung betroffenen Zellen aus dem Körper des Patienten entfernt und außerhalb des Körpers in der Petrischale oder der Zellkulturflasche zusammen mit dem viralen Vektor im Brutschrank inkubiert. Dabei binden die Vektoren zunächst an die Zelloberfläche, werden dann von der Zelle aufgenommen und können ihre genetische Fracht abliefern. Die auf diese Weise genetisch veränderten Zellen können anschließend zurück in den Patienten infundiert werden. Selbstverständlich eignet sich dieses Vorgehen nur für Zellen, die leicht aus dem Körper entnommen und wieder in diesen zurückgegeben werden können. Daher kommt dieses Verfahren vor allem bei der Behandlung von Erkrankungen des Blutsystems oder Immunsystems zum Tragen (Immunzellen sind Teil des Bluts und können leicht aus diesem isoliert werden). Die Mehrheit der Erkrankungen kann nicht mittels eines solchen Ansatzes außerhalb des Körpers (*ex vivo*) behandelt werden, da die meisten Zellen nicht aus dem Körper entfernt werden können, ohne dass der Patient Schaden nimmt. In diesen Fällen muss der virale Vektor entweder direkt (*in vivo*) in das von der Erkrankung betroffene Organ oder Gewebe injiziert werden oder, wenn dieses nicht ohne weiteres zugänglich ist, nach intravenöser Injektion z.B. in die Armbeuge selbst den Weg in das betroffene Gewebe bzw. die betroffenen Zellen finden, was derzeit eine der größten Hürden im Feld der Gentherapie darstellt. Von daher überrascht es nicht, dass die erste klinische Gentherapie-Studie an zwei Patientinnen durchgeführt wurde, die an einer schweren angeborenen Immundefizienz, also an einer Erkrankung der leicht zugänglichen Immunzellen, litten.

Therapie der schwere angeborenen Immundefizienz (SCID)

Bei der durch einen Mangel des Adenosin-desaminase-Enzyms hervorgerufenen schweren angeborenen Immundefizienz (ADA-SCID) handelt es sich um eine äußerst seltene Erkrankung, von der nur etwa eine unter 200.000 - 1.000.000 Personen betroffen ist. Der Enzymmangel führt zu einer gestörten DNA-Synthese, welche vor allem bei der Zellteilung wichtig ist. Da die Immunzellen zu den besonders teilungsaktiven Zellen gehören, sind sie besonders stark von dem Enzymmangel betroffen. Die Betroffenen können sich nicht gegen die allgegenwärtig vorhandenen Krankheitserreger wehren und versterben unbehandelt im Säuglings oder Kleinkindalter. Vor Beginn der 1990er Jahren war die einzige mögliche Therapie eine Stammzelltransplantation mit Zellen eines geeigneten Spenders. Auf Grund eines Mangels an geeigneten Spendern nahm die Erkrankung noch vor einiger Zeit für viele Patienten im Kleinkindalter ein tödliches Ende. Die Erkrankung erlangte traurige Berühmtheit durch den Fall von David Phillip Vetter, einem kleinen Jungen, der in den 1970er Jahren sein Leben in der sterilen Atmosphäre eines überdimensionierten Kunststoffisolators verbringen musste und dessen Schicksal als „The Boy in the Plastic Bubble“ verfilmt wurde (**Abb. 4**).



Abb. 4. David Phillip Vetter, „The Boy in the Bubble“. Der durch einen Mangel an dem Enzym Adenosin-desaminase hervorgerufene schwere angeborene Immundefekt ADA-SCID führt unbehandelt zum Tod im Kindesalter. Der berühmteste Patient, David Phillip Vetter, lebte von seiner Geburt bis zu seinem Tode im Alter von 12 Jahren in keimfreier Umgebung in einem großen Kunststoffisolator. Auf dieser Abbildung ist David bei einem seiner seltenen Spaziergänge außerhalb seiner Plastikbehausung in einem eigens zu diesem Zweck angefertigten „Raumanzug“ zu sehen. Leider wurden sowohl die Enzymersatztherapie als auch die Gentherapie zu spät entwickelt, um David zu retten. Er starb 1984 in Folge der Komplikation einer Stammzelltransplantation

Zeitnah zur Zulassung einer Enzymersatztherapie zur Behandlung von ADA-SCID in den USA kam es 1990 zur weltweit ersten Gentherapie. Den Mädchen Ashanti DeSilva (Alter: 4 Jahre) und Cidy Kisik (Alter: 9 Jahre) wurden in mehreren Runden Stammzellen des Immunsystems aus dem Blut entnommen, welchen durch einen viralen Vektor das Gen für das Adenosin-desaminase-Enzym zugeführt wurde. Die genetisch veränderten Zellen wurden anschließend zurück in die Patientinnen infundiert. Um den beiden jungen Patientinnen keine der möglichen Behandlungsoptionen zu verwehren, wurden sie zusätzlich zur Gentherapie mittels der neu zugelassenen Enzymersatztherapie behandelt.

Die Gentherapie wurde von den beiden Mädchen sehr gut vertragen und schlug anfangs gut an. Nach kurzzeitigem Absetzen der zusätzlichen Enzymersatztherapie kehrten die Krankheitssymptome jedoch schnell zurück, so dass die Therapie zügig wieder aufgenommen wurde. Es lässt sich festhalten, dass die erste Gentherapie zwar außerordentlich gut vertragen wurde (beide Patientinnen zeigen bis heute keine Nebenwirkungen der Therapie) aber nur von äußerst bescheidener Effizienz war. Heute gilt als wahrscheinlich, dass die mangelnde Effizienz auf die Kombination von Gentherapie und Enzymersatztherapie zurückgeführt werden kann, da sich die wenigen im Zuge der Gentherapie genetisch veränderten Zellen unter zusätzlicher Substitution des Adenosin-

minase-Enzyms nicht gegen die vielen genetisch unveränderten Zellen der Patientinnen durchsetzen konnten und vermutlich von diesen verdrängt wurden. In der Folge an diese erste Studie wurden in mehreren Universitätsklinken weitere klinische Studien zur Gentherapie verschiedener Formen der schweren angeborenen Immunschwäche durchgeführt und im Jahr 2000 wurde erstmalig von der Heilung mehrerer Patienten berichtet.

Rückschläge und Risiken

Wie bei der Einführung vieler neuer Techniken, wurden die anfänglichen Erfolge der Gentherapie rasch von unvorhergesehenen tragischen Nebenwirkungen überschattet, die zwischenzeitlich beinahe das Aus der Gentherapie bedeutet hätten. Mit der Erwartung, in naher Zukunft eine Vielzahl von Erkrankungen nebenwirkungsfrei heilen zu können, wurde die Entwicklung der Gentherapie zur letzten Jahrtausendwende nahezu euphorisch in klinischen Studien vorangetrieben. Gewisse potentielle Risiken scheinen dabei teilweise außer Acht gelassen worden zu sein. So kam es im Jahr 1999 zu einem ersten tragischen Todesfall im Zuge einer klinischen Studie zur Behandlung eines Enzymdefekts, dem Ornithin-Transcarbamylase- (OTC-) Mangel, bei dem eine gestörte Stickstoffausscheidung zur Anreicherung giftigen Ammoniaks im Körper führt. Obwohl der erst achtzehnjährige Jesse Gelsinger die Erkrankung durch eine strikt proteinfreie Ernährung gut kontrollieren konnte (Proteine sind die Hauptquelle für Stickstoff), stellte er sich für die klinische Studie zur Verfügung. Der Hochdosis-Gruppe zugeteilt, wurden Jesse 30 ml einer hochkonzentrierten Lösung eines OTC-Genvektors auf Basis des Adenovirus intravenös verabreicht. In der Folge entwickelte Jesse hohes Fieber und eine massive Immunreaktion gegen den adenoviralen Vektor. Vier Tage nach der Behandlung erlag Jesse einem multiplen Organversagen, in dessen Folge es zum Hirntod kam. Obwohl die Versuchsleiter mit solch gravierenden Nebenwirkungen wohl nicht gerechnet hatten, zeigt dieser traurige Fall ein grundsätzliches Risiko auf, welches im Prinzip hätte rechtzeitig erkannt werden können. Virale Vektoren sind durch das Entfernen des Virusgenoms zwar keine vollständigen Viren mehr; sie können sich in der Regel weder vermehren noch schädigen sie ihre Zielzellen aber sie besitzen noch das komplette äußere „Erscheinungsbild“ eines Virus. Wie bereits beschrieben, besteht ein viraler Vektor aus der Virushülle und/oder dem Viruskapsid eines natürlichen Virus, wobei das Virusgenom durch ein therapeutisches Gen ausgetauscht wurde. Der menschliche Körper erkennt die viralen Vektoren als Eindringlinge, denn er kann nicht zwischen echtem Virus und viralem Vektor unterscheiden. Je nach Virustyp reagiert er darauf mit einer mehr oder weniger starken Immunantwort, die das Ziel hat, die vermeintlich schädigenden Eindringlinge zu neutralisieren. Eine Untersuchung des Todesfalls durch die amerikanische Gesundheitsbehörde deckte auf, dass eine ähnliche Immunreaktion von den Versuchsleitern zuvor bereits in Experimenten mit Affen und in schwächerer Form auch bei anderen Studienteilnehmern beobachtet worden war und dass man Jesse über diese möglichen schweren Nebenwirkungen nicht aufgeklärt hatte. Die spätere Erkenntnis, dass dieses Problem durch die Wahl an besser geeigneten, d.h. vom Körper weniger stark bekämpften Virustypen und die kurzfristige prophylaktische Gabe von Immunsuppressiva komplett umgangen werden kann, kam für Jesse Gelsinger leider zu spät.

Ein weiteres Risiko bestimmter Formen der Gentherapie offenbarte sich kurz nach dem Todesfall von Jesse Gelsinger. Einige der mittels Gentherapie von der schweren Immundefizienz geheilten Patienten (s.o.) entwickelten wenige Jahre nach der zunächst erfolgreichen Gentherapie eine Leukämie. Es zeigte sich, dass das mittels viralem Vektor transferierte therapeutische Gen durch den Einbau an willkürlicher Position in das Patientengenom in einigen der mit Vektor behandelten Blutstammzellen ein körpereigenes Proto-Onkogen („Krebsgen“) aktivierte. Die auf diese Weise mutierten und zurück in den Patienten infundierten Zellen begannen, sich unkontrolliert zu teilen und weiter zu wachsen was schlussendlich zum Krebs führte. Bis auf eine Ausnahme konnten alle Patienten mittels Chemotherapie von der Leukämie geheilt werden, während die ursprüngliche Immundefizienz nicht wieder zurückkehrte. Trotzdem zeigten diese erneuten Zwischenfälle eindrücklich, dass der Einbau von fremder DNA an willkürlicher Position in das Patientengenom mit einem größeren Risiko verbunden ist als ursprünglich antizipiert.

Gentherapie heute

Die anfängliche überschwängliche Euphorie um die Gentherapie ist der der harten Realität gewichen und zeigte Ärzten und Betroffenen die Grenzen dieser Technik auf. Obwohl die beschriebenen schweren Zwischenfälle zur Jahrtausendwende fast für ein frühes Ende der Gentherapie sorgten, blieben viele Wissenschaftler am Ball und verbesserten die zur Verfügung stehenden Techniken in vielen kleinen mühsamen Schritten weiter, um die offenkundig gewordenen Risiken und Schwachstellen nach und nach zu minimieren. Es lässt sich feststellen, dass heute eine deutlich realistischere Einschätzung der Vor- und Nachteile der Gentherapie vorherrscht als noch vor 20 Jahren. Heute darf wieder vorsichtiger Optimismus angebracht sein, was die weitere Entwicklung dieser modernen Form der Medizin angeht. Tatsächlich hat man es geschafft, u.a. durch eine kontinuierliche Optimierung der viralen Vektoren viele der anfänglichen Risiken zu eliminieren. Heute gilt die Gentherapie als sicher. Diese Sicherheit wurde bisher naturgemäß nur für die bereits ausgiebig studierten Verfahren des Gentransfers belegt. Für jede neu entwickelte Technik wird diese Sicherheit abermals bewiesen werden müssen, bevor sie - nach permanenter Optimierung - Anwendung am Patienten finden. Dies gilt auch für die CRISPR/Cas-Technik, von der in den letzten Monaten viel in den Medien berichtet wurde. Dass sich die große Mühe der Forschung auf dem Gebiet der Gentherapie gelohnt hat, zeigt sich nicht zuletzt daran, dass im Jahr 2016, also ein Vierteljahrhundert nach der Behandlung von Ashanti deSilva und Cidy Kisik im Rahmen der ersten klinischen Gentherapie-Studie, eine ganz ähnliche gentherapeutische Behandlung der schweren angeborenen Immundefizienz mit der Bezeichnung *Strimvelis* die Marktzulassung in der EU erhalten hat. Die Heilungsrate der von GlaxoSmithKline vertriebenen *Strimvelis*-Behandlung liegt bei ganzen 75%, wobei die Kosten auf Grund der hohen Entwicklungskosten und der extrem geringen Inzidenz der Erkrankung bei knapp 600.000 Euro für die einmalige Behandlung liegen. Obwohl ausgesprochen hochpreisig, ist die Gentherapie damit trotzdem günstiger als die „konventionelle“ Enzymersatztherapie, bei der alleine in einem Zeitrahmen von zehn Jahren über 4 Millionen Dollar an Kosten anfallen. Bei den vor Kurzem zugelassenen sogenannten CAR-T-Zell-Therapien mit den Bezeichnungen *Kymriah* (Novartis) und *Yescarta* (Gilead Sciences) zur Immuntherapie von bestimmten Formen des Blutkrebs handelt es sich um Formen der Gentherapie, bei denen bestimmte Immunzellen des Körpers entnommen und gentechnisch so verändert werden, dass die im Anschluss körpereigenen Krebszellen erkennen und angreifen können. Die Effizienz dieser Therapien wird sich in den nächsten Jahren zeigen. Auch die längerfristige Effizienz von *Luxturna* (Spark Therapeutics) zur Behandlung einer bestimmten Augenerkrankung wird sich noch beweisen müssen, wobei bereits zu erkennen ist, dass auf Grund begrenzter Vektoreffizienz mit *Luxturna* keine langfristige Heilung erzielt werden kann. Es ist davon auszugehen, dass eine breitere Anwendung der Gentherapie ermöglichen wird, die Effizienz der Gentherapeutika besser zu bewerten und die Kosten dieser Therapieform in Zukunft weiter zu verringern.

Eigene Forschung

Auch wenn derzeitige Gentherapien als sicher gelten, steht der Behandlung einer Vielzahl an Erkrankungen eine mangelnde Effizienz aktueller Vektorsysteme im Wege. Insbesondere der effektive Gentransfer in bestimmte unzugängliche Organe des Patienten bereitet große Schwierigkeiten. Es mangelt nach wie vor an geeigneten Vektoren für den sogenannten *in vivo*-Einsatz. Die Natur bietet nicht genug Auswahl an Viren die dazu in der Lage wären, ein therapeutisches Gen nach einer intravenösen Injektion zielgerichtet nur in eine bestimmte Zellpopulation zu überführen. Dies gilt - nicht ausschließlich aber insbesondere - für die vielen teilweise sehr schwerwiegenden neurologischen Erkrankungen. Um ein sicheres, effizientes und zielgerichtetes Vektorsystem für den *in vivo* Einsatz zu entwickeln, muss das Spektrum natürlich vorkommender Virustypen künstlich modifiziert und erweitert werden. Mit dieser Aufgabe sind derzeit zahlreiche Forschergruppen weltweit beschäftigt und auch meine Forschung beschäftigt sich mit diesem Thema. Die Forschung unseres Labors basiert auf einem extrem kleinen, weitverbreiteten aber unscheinbaren und absolut harmlosen Virus, dem Adeno-assoziierten Virus (AAV). Je nach Schätzung sind

60-90% der Bevölkerung seropositiv für AAV, d.h. sie sind bereits mit diesem Virus infiziert. Dass diese Tatsache kaum Jemandem bekannt ist, zeigt, wie harmlos und unauffällig das AAV ist. Selbst das natürliche Virus ist mit keinerlei Krankheitssymptomen assoziiert und verursacht keinerlei Beschwerden. Auf Grund seiner hohen Sicherheit, die bereits in unzähligen klinischen Studien belegt wurde, stellt AAV ein sehr beliebtes virales Vektorsystem für den gentherapeutischen Einsatz dar. Die Beschaffenheit des viralen Kapsids von AAV bestimmt, welche Zellen von dem Virus effektiv infiziert werden können. Bei vielen AAV-Varianten ist bereits bekannt, mit welchem Bereich ihres Viruskapsids sie an bestimmte Zelloberflächenmoleküle binden, um anschließend in ihre Zielzellen aufgenommen zu werden. Ziel unserer derzeitigen Forschung ist die Entwicklung von AAV-basierten Gentherapievektoren mit Spezifität für bestimmte Zellen des Gehirns, der Lunge oder für auch bestimmte Krebszellen. Da es keine natürlichen AAV-Kapside gibt, mit denen sich diese Zellen spezifisch und effizient infizieren lassen, müssen die von der Natur zur Verfügung gestellten Viruskapside modifiziert werden. Dazu verändern wir gezielt nur denjenigen Bereich im Kapsid, von dem bekannt ist, dass er für die Zellbindung essentiell ist.

Nun haben wir das Problem, dass wir nicht wissen, wie genau das Kapsid in seiner Zellbindungsdomäne aussehen bzw. verändert werden muss, um an die Zielzellen unseres Interesses zu binden. Um dennoch zum Ziel zu kommen, wenden wir ein Verfahren an, dass auch als „*directed evolution*“ bezeichnet wird. Dafür verändern wir diesen für die Zellbindung so essentiellen Bereich des Viruskapsids im Prinzip relativ willkürlich, in dem wir zusätzliche kleine randomisierte Proteinbausteine, sogenannte Peptide, einfügen. Die Wahrscheinlichkeit, mit einer solchen willkürlichen Veränderung des Kapsids die Affinität zu den Zielzellen unseres Interesses zu erhöhen, ist naturgemäß extrem gering. Daher reicht es nicht, lediglich eine einzige solche modifizierte Kapsidvariante herzustellen. Wir generieren in unserem Labor weit über 100 Millionen verschiedene Kapsidvarianten, welche jeweils durch den Einbau kleiner willkürlicher Peptide verändert werden. Eine auf diese Weise hergestellte sogenannte „randomisierte AAV-Peptidbank“ enthält mit großer Wahrscheinlichkeit einen riesigen Überschuss an AAV-Kapsiden, die nicht über die von uns gewünschten Eigenschaften verfügen. Viele der Kapside werden auf Grund der Modifikation wahrscheinlich gar nicht mehr in der Lage sein, überhaupt noch an irgendeine Art von Zellen zu binden. Auf Grund der nahezu unendlich großen Anzahl an Varianten, enthält die randomisierte AAV-Peptidbank allerdings mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit einige Kapside, die genau über die von uns gewünschten Eigenschaften verfügen. Zur Identifizierung dieser Wunschkandidaten aus dem großen Pool an modifizierten Kapsiden entwickelten wir ein aufwändiges Selektionsverfahren an dessen Ende die Isolation der am besten geeigneten Kandidaten aus dem Zielorgan bzw. den Zielzellen steht. Tatsächlich ist es auf diese Weise bereits gelungen, AAV-Kapside zu isolieren, die nach intravenöser Injektion den spezifischen Gentransfer in therapeutisch relevante Zellen der Lunge, des Gehirns oder auch in bestimmte Tumorzellen erlauben (**Abb. 5**). Solche oder ähnliche Viruskapside könnten nach weiterer Optimierung in Zukunft als Gentherapievektoren im *in vivo* Einsatz für die Behandlung schwerwiegender Erkrankungen genutzt werden.

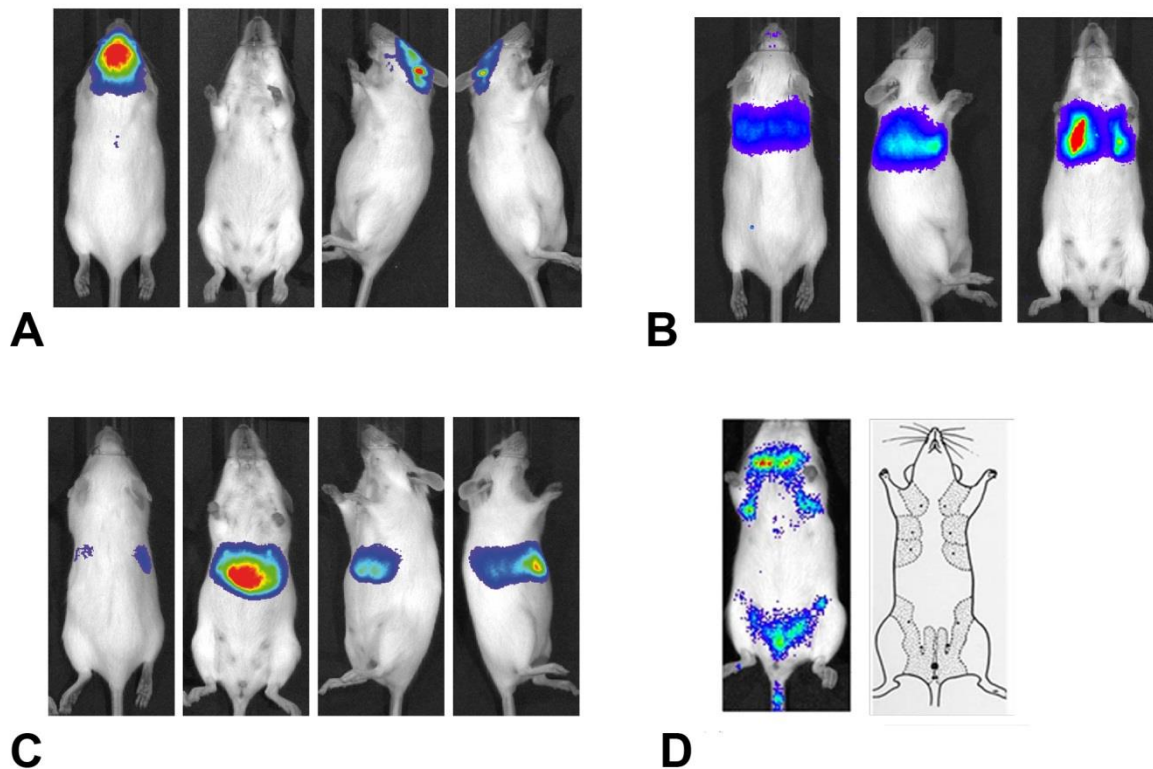


Abb. 5. Zielgewebe verschiedener modifizierter viraler Genvektoren nach intravenöser Injektion in Versuchsmäuse. Nach dem Gentransfer in die Zielzellen, beginnen diese aufgrund des transferierten Kontrollgens aus einem Leuchtkäfer (Luciferase) zu leuchten. Das Leuchten kann mittels einer hochempfindlicher Kamera detektiert werden und wird in Falschfarben (Regenbogenfarben) wiedergegeben. Rot = viel viraler Vektor; blau/türkis = weniger viraler Vektor. **A)** Ein modifizierter AAV-Vektor aus unserer AAV-Peptidbank, der nach intravenöser Injektion zielgerichtet die Endothelzellen des Gehirns erreicht. **B)** Ein modifizierter AAV-Vektor aus unserer AAV-Peptidbank, der nach intravenöser Injektion zielgerichtet die Endothelzellen der Lunge erreicht. **C)** Ein AAV-Vektor, der nach intravenöser Injektion zielgerichtet die Leberzellen erreicht. **D)** Links: Ein modifizierter AAV-Vektor aus unserer AAV-Peptidbank, der nach intravenöser Injektion zielgerichtet das Tumorgewebe einer Maus mit Brustkrebs erreicht. Rechts: Schematische Darstellung des Brustgewebes, in welchem sich bei dieser Maus Brustkrebs entwickelt.

Abschließende Bemerkung

Bei den hier besprochenen Gentherapien handelt es sich sämtlich um Interventionen an somatischen Zellen der Patienten, d.h. explizit nicht um Zellen der Keimbahn (Spermien oder Eizellen und deren Vorläufer). Die genetischen Veränderungen betreffen demnach nur die Patienten selbst, meist nur bestimmte Zellen in wenigen Organen, und werden nicht an deren potentiellen Nachkommen weitergegeben. Aus ethisch-moralischen Erwägungen und aus Gründen der Risikoprävention haben sich Wissenschaftler und Ärzte darauf verständigt, bis auf weiteres von gentechnischen Eingriffen in die Keimbahn des Menschen abzusehen. In der Diskussionsrunde in Anschluss an meinen Vortrag kam dieses wichtige Thema ebenfalls auf. Dabei erwähnte ich, dass China das einzige Land sei, von dem ich mir momentan vorstellen könne, dass dort solche Eingriffe in die Keimbahn in absehbarer Zeit durchgeführt werden. Wenige Wochen nach der Diskussion sorgte der Fall des Chinesischen Wissenschaftlers He Jiankui international für großes Entsetzen unter Fachkollegen und der interessierten Öffentlichkeit. He Jiankui gab an, mittels der CRISPR/Cas-Technologie das Genom von menschlichen Embryonen modifiziert und diese dadurch immun gegen HIV gemacht zu haben. Diese in der Zellkulturschale modifizierten Embryonen wurden laut des Wissenschaftlers anschließend ihren Müttern in die Gebärmutter eingesetzt, was zur Geburt der weltweit ersten mutmaßlich gentechnisch veränderten Babys führte. Welche Implikationen das für die beiden neugeborenen Mädchen im Laufe ihres hoffentlich noch langen weiteren Lebens haben wird, bleibt unklar. Höchstwahrscheinlich werden sie selber nur Kinder bekommen können, die ebenfalls genetisch verändert sind. Die weltweite Empörung über diesen

Fall, auch und gerade unter Fachkollegen, wird helfen, die ethische Debatte zu vertiefen und international gültige Regeln für den Umgang mit Keimzellen und Embryonen zu verabschieden. Dennoch wurde dem öffentlichen Ansehen der Gentherapie und dem Vertrauen der Öffentlichkeit in die Wissenschaft mit diesem Vorgehen ein Bärendienst erwiesen.

Zum Abschluss möchte ich noch einmal auf die im Titel des Vortrags enthaltene Frage zurückkommen, ob die Zukunft der Medizin maßgeblich durch die Gentherapie bestimmt werden wird. Aus meiner Sicht hat die Gentherapie die während ihrer Anfangszeit formulierten extrem hohen Erwartungen bis jetzt nicht erfüllt und ich bezweifle, dass sie diese übertriebenen Erwartungen jemals erfüllen wird. Die Gentherapie wird auf absehbare Zeit nicht das Allheilmittel oder die Medizin der Zukunft werden, mit dem die Mehrheit aller Erkrankungen therapiert werden wird. Bis die Gentherapie flächendeckende Anwendung findet, werden auf Grund der hohen Entwicklungszeiten und Kosten noch viele Jahre vergehen, sollte es überhaupt jemals dazu kommen. Dennoch handelt es sich bei der Gentherapie zweifelsohne um eine mittlerweile gut untersuchte, in weiten Teilen äußerst sichere und zunehmend etablierte Form der Therapie, die insbesondere dazu geeignet scheint, einige besonders schwerwiegende Erkrankungen zu behandeln. Die heutigen Erfolge z.B. bei der Therapie der schweren angeborenen Immundefizienz sprechen für sich. Auch bei anderen schwerwiegenden Erkrankungen besteht die realistische Chance einer echten Heilung durch zukünftig entwickelte Gentherapien. Ob die Gentherapie bei der Behandlung von weniger schwerwiegenden Erkrankungen sinnvoll sein kann, bleibt abzuwarten. Mit zunehmender Effizienz und Präzision des Gentransfers wird die Bedeutung der Gentherapie mit hoher Wahrscheinlichkeit weiter steigen. Der Einstige der großen Pharmaunternehmen wird die Forschung in dem Bereich weiter beflügeln. Die Gentherapie wird das Angebot an Therapieoptionen für bestimmte Erkrankungen zukünftig auf sinnvolle Weise erweitern. Die Heilung einiger erster schwerkranker Patienten zeigt, dass wir auf einem guten Weg sind.

Weiterführende Links

https://www.ema.europa.eu/documents/overview/stimvelis-epar-summary-public_de.pdf

https://www.ema.europa.eu/documents/overview/imlygic-epar-summary-public_de.pdf

https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/kymriah-epar-public-assessment-report_en.pdf

<https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/news/artikel/2017/01/04/wenn-das-teuerste-arzneimittel-der-welt-scheitert>

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.15252/emmm.201506078>

https://ac.els-cdn.com/S1525001616303720/1-s2.0-S1525001616303720-main.pdf?_tid=517cf114-30c2-4998-a346-eabb1567e93e&acdnat=1548064979_6b65557ae0f7740a75e77f3a8a4cd0c5

<https://www.faz.net/aktuell/politik/supermacht-china/groessenwahn-des-biophysikers-he-jiankui-genetisch-veraenderte-babys-15952840.html>

https://www.zeit.de/1999/47/199947.gentherapie_.xml



Foto: Jakob Körbelin

Dr. Jakob Körbelin studierte nach dem Abitur (2003) und Zivildienst an der Universität Hamburg Biologie mit den Schwerpunkten Molekularbiologie und Botanik. Nach der Diplomprüfung promovierte er im Jahr 2013 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf und arbeitete von 2014 bis 2017 als Laborleiter der Arbeitsgruppe „Receptor Targeting“ am universitären Krebszentrum des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf.

Vom Oktober 2017 bis September war Jakob Körbelin Professor für „Gentherapie von Erkrankungen des Gehirns“ am

Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität zu Lübeck und arbeitet seit dem 1. Oktober 2018 wieder am UKE.