

C I Edvard Smith, professor, överläkare, kliniskt forskningscentrum samt institutionen för biovetenskaper
Karolinska institutet, Huddinge Universitetssjukhus (edvard.smith@cbt.ki.se)

Genterapin kanske på väg att infria förväntningarna

Dock ännu inte en riskfri behandlingsmetod

II Biomedicinen har under den senaste tioårsperioden förändrats i grunden. Genom den snabba utvecklingen inom cell- och molekylärbiologin har vår förståelse av biologiska processer – såväl normala som sjukliga – ökat på ett sätt som saknar motstycke. Här utgör kartläggningen av det humana genomet det kanske mest uppmärksammade exemplet. Kartläggningen innebär också att samtliga gener inom kort finns tillgängliga för såväl diagnostiska som terapeutiska ändamål.

Ändå har inte alla förväntningar infriats. Trots tillgång till välkarakteriserade arvsanlag har det visat sig vara betydligt svårare att använda sig av dessa i ett terapeutiskt syfte, dvs genterapi, än vad de flesta trott.

Genterapin är också intressant ur ett mer allmänt perspektiv. För första gången har en helt ny medicinsk teknologi varit föremål för en kritisk granskning av såväl medier som myndigheter under själva utprovningen. Samtidigt har forskningens förändrade villkor i form av företagande och tillgång till riskkapital satt sin tydliga prägel, inte minst i USA. En del av USAs dominans inom biomedicinsk utveckling, inte minst inom genterapin, kan troligen härledas till den dynamik som alternativa finansieringsformer skapar.

Dessa förutsättningar medför vidare att det kan vara befogat att se över gällande regelverk – bl a har det ifrågasatts om det är lämpligt att forskare med ekonomiska intressen i en viss teknologi samtidigt kan bedriva kliniska provningar där tekniken utprovas.

Försök med genterapi vid tumörsjukdomar dominerar

När genterapiförsök på människa inleddes för tio år sedan var den förhärskande uppfattningen att monogena sjukdomar skulle utgöra den huvudsakliga diagnosgruppen. Relativt snart stod det emellertid klart att det var tumörsjukdomarna som skulle komma att dominera. Det finns flera skäl till detta. En viktig orsak är att cancer är betydligt vanligare än de flesta monogena sjukdomar. Dessutom är en majoritet av patienterna vuxna när de insjuknar, vilket underlättar när patienten skall informeras om eventuella risker. Vidare kan samma terapigener tänkas ha effekt vid flera olika cancerformer.

Resultaten hittills är ganska blygsamma, men det finns exempel på vad som verkar vara lyckade försök [1]. Inte helt

SAMMANFATTAT

Genterapin har länge haft svårt att leva upp till högt ställda förväntningar.

Tumörer utgör den dominerande sjukdomsgruppen vid genterapi.

År 1999 inträffade det första dödsfallet som tillskrivits genterapi.

År 2000 rapporterades den första lyckade genterapibehandlingen.

Flera förstudier har givit lovande resultat.

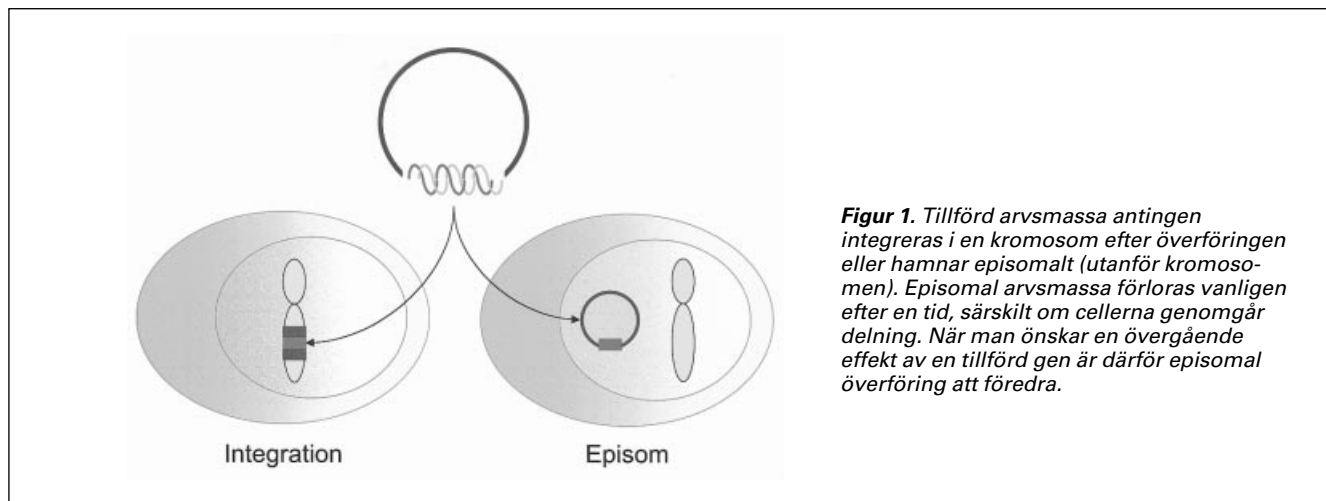
oväntat rör det sig här om en behandling som kombinerar olika terapiformer.

Dödsfall vid behandling av monogen leversjukdom

Jesse Gelsinger var en 18-årig amerikan med en ärftlig leversjukdom orsakad av en mutation i genen för enzymet ornitinttranskarnbamyas. Sjukdomen kan orsaka bildning av ammoniak och resultera i nervskador som kan vara letala. I september 1999 medverkade Gelsinger i en experimentell genterapistudie, där terapigenen överfördes med hjälp av ett modifierat adenovirus. Projektet var ett av många som utfördes vid Institute for Human Gene Therapy vid University of Pennsylvania. Bakom projektet stod bl a institutets chef, dr James M Wilson, det amerikanska genterapisällskapets andre ordförande och en av de mest inflytelserika forskarna inom fältet.

Försöket innebar att fler än $3,8 \times 10^{13}$ viruspartiklar infördes i leverartären. Snart tillstötte komplikationer i form av en kraftig inflammatorisk reaktion, som ledde till döden inom loppet av fyra dagar. Försöket var upplagt som en eskalerande dosstudie; en patient hade tidigare fått samma mängd terapivirus utan att reagera.

Den tragiska händelsen har fått en enorm uppmärksamhet



Figur 1. Tillförd arvs massa antingen integreras i en kromosom efter överföringen eller hamnar episomalt (utanför kromosomen). Episomal arvs massa förloras vanligen efter en tid, särskilt om cellerna genomgår delning. När man önskar en övergående effekt av en tillförd gen är därför episomal överföring att föredra.

med rapporter i såväl vetenskaplig press som dagspress. På institutets hemsida (www.med.upenn.edu/ihgt/otcinfo.html) finns hänvisningar till ett stort antal artiklar publicerade världen över.

Ärendet har behandlats i flera granskande instanser i USA och har resulterat inte bara i att institutet fått avbryta samtliga försök på människa utan även i att ett begränsat moratorium införts vid andra amerikanska universitet. Det har ifrågasatts huruvida patienten fick fullständig information innan försöket påbörjades, och det finns olika uppfattningar avseende om man följt gällande inklusionskriterier. Detta och det faktum att flera av universitetets företrädare haft ekonomiska intressen i verksamheten är föremål för rättslig prövning. Redan tidigare hade man noterat inflammatoriska reaktioner mot adenovirus i samband med behandling av cystisk fibros [2], och det är väl känt att en överväldigande majoritet av vuxna människor världen över har infekterats av adenovirus och utvecklat en vanligen uttalad immunitet.

En fråga som kan ställas är huruvida nya behandlingsformer är riskfria. Man får nog tyvärr konstatera att så inte är fallet ens år 2001. Idag etablerade behandlingar som hjärt- och hjärnkirurgi, transplantationer och cytostatikabehandling var långtifrån riskfria under utprovningssfasen. Även om ingen möda skall sparas för att så långt möjligt undvika negativa effekter bör man nog vara medveten om att det finns risker med alla nya behandlingsformer.

Lyckat försök vid svår kombinerad immunbrist

Svår kombinerad immunbrist (SCID) är ett samlingsnamn på ett stort antal ovanliga sjukdomar som beror på avsaknad av T-lymfocyter och som medför sekundära brister inom andra delar av immunsystemet. Utan behandling med hematopoetiska stamceller från benmärgen leder dessa sjukdomar till en uttalad infektionsbenägenhet; patienterna avlider ofta redan under det första levnadsåret.

En av dessa sjukdomar, adenosindeaminasbrist, har utgjort en prototyp för genterapi under mer än ett decennium och blev också den första sjukdom där genterapi prövades. Dessa försök inleddes år 1990 vid National Institutes of Health i USA. Liknande studier har även genomförts i Europa [3]. Även om man sett vissa tecken på att immunologiska funktioner har påverkats genom att tillföras ett »friskt« anlag finns det hittills inga belägg för en verklig terapeutisk effekt.

Det finns framför allt två skäl till att just denna ovanliga immunbrist blivit föremål för en så omfattande forskningsinsats. Det ena skälet är att stamceller för T-lymfocyter finns i benmärg och därför är tillgängliga. Det andra skälet är att cel-

ler som tillförts ett normalt anlag har en selektiv överlevnadsfördel, eftersom T-lymfocyter som saknar anlaget dör på grund av att de ansamlar toxiska metaboliter. En kanske avgörande orsak till att genterapi vid adenosindeaminasbrist inte fungerat som förväntat är att enzymterapi blev tillgänglig strax innan försöken kom igång. Detta har medfört att celler som tagit upp anlaget knappast får någon överlevnadsfördel.

Efter flera års planering påbörjades i april 1999 genterapi-behandling av patienter med en könsbunden form av SCID vid Hôpital Necker i Paris. Vid denna sjukdom fungerar inte signalöverföringen från ett flertal interleukinreceptorer på grund av mutationer i genen för en gemensam receptorsubenheter. Två patienter, som saknade lämpliga donatorer av stamceller och vars egna stamceller därför tillfördes ett »friskt« anlag, rapporterades nyligen [4]. Patienterna uppvisar inte längre några sjukdomstecken, har väsentligen normala immunsvår vid vaccinationer och vistas hemma. Enligt den senaste sammanställningen, som rapporterades av dr Marina Cavazzana-Calvo vid det Europeiska genterapisällskapets möte i Stockholm i början av oktober år 2000, har nu fem patienter behandlats. Alla utom en har visat goda behandlingsresultat. Den femte patienten hade en allvarlig infektion när försöket påbörjades, något som kan ha inverkat negativt.

Det franska försöket har inneburit en viktig milstolpe i genterapins utveckling. För första gången har denna nya behandlingsprincip burit frukt. Det bör samtidigt framhållas att observationstiden ännu är kort och att man därför inte kan uttala sig om behandlingens varaktighet. Vid såväl adenosindeaminasbrist som könsbunden SCID har man använt retrovirus som bärare av terapigenen. Till skillnad från exempelvis adenovirus integrerar retrovirus sina anlag i cellens kromosomer (Figur 1). Retrovirus är en lämplig bärare när man är intresserad av ett långvarigt uttryck och vidare när målcellen förväntas genomgå ett stort antal celledelningar, något som gäller för hematopoetiska stamceller.

Genterapi vid blödersjuka kan bli verklighet

Blödersjuka, framför allt den form som orsakas av brist på faktor IX, har varit föremål för omfattande experimentella studier med sikte på genterapi. Nyligen rapporterades lovande resultat med adenoassocierat virus, ett virus som anses vara apatogent [5]. De doser som tillfördes var för små för att kunna ge en terapeutisk effekt, men extrapolering av data från djurexperimentella studier visade att uttrycksnivån hos människor var högre än förväntat.

Anlaget för faktor VIII är väsentligt större än det för fak-

II Fakta

Genterapi: kort historik

1989: Överföring av bakteriell markörgen till vita blodkroppar, som ges tillbaka till patienter med melanom (NIH, USA).

1990: Första försöket att behandla patienter med genterapi. Genen för adenosindeaminas överförs till barn med svår kombinerad immunbrist (NIH, USA).

1995: Första genöverföringen i Sverige. Bakteriell markörgen överförs med retrovirus till benmärgsceller i syfte att förbättra myelombehandling (Huddinge Universitetssjukhus).

2000: Klinisk effekt av kombinationsterapi vid tumörer (MD Anderson Cancer Center, USA).

2000: Första säkerställda kliniska behandlingseffekten vid genterapi. Barn med svår kombinerad immunbrist får en interleukin-receptorgen via retrovirus (Hôpital Necker, Frankrike).

tor IX, vilket innebär vissa tekniska begränsningar eftersom inte alla virus klarar av att härbärgera faktor VIII-genen.

Genterapi vid hjärt-kärlsjukdom

Både i USA och i Europa pågår försök att behandla hjärt-kärlsjukdom med genterapi [6, 7]. En behandlingsprincip innebär att stimulera nybildning av blodkärl som kan fungera som kollateraler, ett slags biologisk bypass-operation. Vid Huddinge Universitetssjukhus har metoden hittills prövats på sex patienter. Försöken har genomförts med hjälp av plasmider innehållande genen för »vascular endothelial growth factor» (VEGF), som tillverkats vid sjukhusets eget genterapicentrum. Denna pilotstudie visar att både kliniska och biologiska parametrar förändrats i rätt riktning [8].

Ännu återstår dock mycket att göra innan metoden är fullt utvecklad. Även om resultaten hittills är högst begränsade är de ändå av principiellt intresse, eftersom de visar på möjligheten att behandla stora sjukdomsgrupper där de grundläggande orsakerna inte har något direkt samband med terapigenen. Rent tekniskt kunde man i stället tillföra VEGF-protein, men plasmiden har fördelen att åstadkomma ett mer långvarigt, men ändå tidsbegränsat, uttryck.

Nya vektorer kan innebära förbättrad överföring

Hur framtidens vektorer ser ut kan man bara gissa. Det finns dock goda skäl att tro att de kommer att vara annorlunda beskaffade. Virus utgör idag den dominerande vektorformen, men bara en handfull virus har ännu studerats (adenovirus, adenoassocierat virus, retrovirus och herpesvirus). Sedan 1996 har man börjat använda förändrade former av HIV, vanligen benämnda lentivirus. Det kan låta paradoxalt att en av människans värsta fiender nu i stället skall bli vår tjänare, men mycket talar för att lentivirus kan bli ett intressant tillskott i terapiarsenalen [9]. Till skillnad från retrovirus kan lentivirus infektera celler som inte delar sig. Det har bl a inneburit att man kunnat registrera långvarigt genuttryck i nervceller hos försöksdjur som tillförts detta virus.

Säkerhetsaspekten har ofta diskuterats. Det skulle krävas mycket omfattande rekombinationer för att återskapa infektiösa partiklar, och de flesta anser att detta normalt inte kan ske. Förutsättningarna vore något annorlunda om en lentivirusvektor skulle tillföras en patient som redan bär på HIV, men i det fallet behöver man ju inte återskapa viruset – det finns ju redan.

Många grupper arbetar också med ren arvsmassa, s k »na-

ket DNA» [10]. Redan för ett decennium sedan kunde man visa att sådan arvsmassa kan ge upphov till ett långvarigt genuttryck efter injektion i muskelvävnad [11]. En fördel med naket DNA som vektor är att det egentligen inte finns några begränsningar vad avser storleken på den arvsmassa som kan överföras. Nackdelen är att naket DNA fortfarande är ineffektivt i jämförelse med sina kamrater på virussidan. Gapet tenderar emellertid att minska, och möjligheten att framställa hybridformer, ett slags syntetiska virus, skulle kunna vara ett alternativ [12]. Man kan förmoda att den farmaceutiska industrin i slutänden skulle föredra syntetiska bärare framför biologiska virus, eftersom det alltid finns en osäkerhet med biologiska preparationer, vilka därför måste genomgå omfattande och dyra analyser innan de kan certifieras som läkemedel.

Försiktig optimism befogad

Sedan jag för fem år sedan skrev en översikt om genterapi för Läkartidningen [3] har mycket förändrats. Under en följd av år hade då alltför optimistiska uttalanden resulterat i en övertro på genterapins möjligheter att snabbt förändra sjukvården. Idag finns mer av en sund skepsis kring framstegstakten. Det senaste året har inneburit både det första dödsfallet som tillskrivits genterapi och de första lyckade försöken vid en allvarlig sjukdom.

En allmän uppfattning är att forskningen har utvecklats i rätt riktning och att det finns goda skäl att hysa en försiktig optimism om genterapins framtida möjligheter.

Referenser

1. Khuri FR, Nemunaitis J, Ganly I, Arseneau J, Tannock IF, Romel L et al. A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. *Nat Med* 2000; 6: 879-85.
2. Crystal RG, McElvaney NG, Rosenfeld MA, Chu CS, Mastrangeli A, Hay JG et al. Administration of an adenovirus containing the human CFTR cDNA to the respiratory tract of individuals with cystic fibrosis. *Nat Genet* 1994; 8: 42-51.
3. Smith CIE. Genterapi. Förväntningar och förverkligande. *Läkartidningen* 1996; 93:349-50.
4. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nusbaum P et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000; 288: 669-72.
5. Kay MA, Manno CS, Ragni MV, Larson PJ, Couto LB, McClelland A et al. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 2000; 24: 257-61.
6. Laitinen M, Hartikainen J, Hiltunen MO, Eranen J, Kiviniemi M, Narvanen O et al. Catheter-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer to human coronary arteries after angioplasty. *Hum Gene Ther* 2000; 1: 263-70.
7. Vale PR, Losordo DW, Milliken CE, Maysky M, Esakof DD, Symes JF et al. Left ventricular electromechanical mapping to assess efficacy of phVEGF(165) gene transfer for therapeutic angiogenesis in chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2000; 102: 965-74.
8. Sylvén C, Sarkar N, Rück A, Drvota V, Y-Hassan S, Lind B et al. Myocardial doppler tissue velocity improves following myocardial gene therapy with VEGF-A165 plasmid in patients with inoperable angina pectoris. *Coron Artery Dis*. Under publ.
9. Vigna E, Naldini L. Lentiviral vectors: excellent tools for experimental gene transfer and promising candidates for gene therapy. *J Gene Med* 2000; 2: 308-16.
10. Luo D, Saltzman WM. Synthetic DNA delivery systems. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 33-7.
11. Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 1990; 247: 1465-8.
12. Brandén LJ, Mohamed AJ, Smith CIE. A peptide nucleic acid-nuclear localization signal fusion that mediates nuclear transport of DNA. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 784-7.