Pädiatrie *up2date*

2 · 2019

Spezielle Themen der Pädiatrie 14

Gentherapie in der Pädiatrie – bereits Realität oder noch immer Fiktion?

Deborah Bartholdi

VNR: 2760512019156645572
DOI: 10.1055/s-0043-115206
Pädiatrie up2date 2019; 14 (2): 167–180
ISSN 1611-6445
© 2019 Georg Thieme Verlag KG

Thieme

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Unter dieser Rubrik sind bereits erschienen:

Ertrinkungsunfälle bei Kindern und Jugendlichen J. Olfe, U. Gottschalk, D. Singer Heft 4/2018

Update Augenheilkunde – Amblyopie und Refraktionsfehler L. Joachimsen, N. J. Gross, W. A. Lagrèze Heft 3/2017

Proteinurie und Hämaturie M. C. Liebau Heft 3/2017

Alpine pädiatrische Notfälle A. G. Brunello, A. Trippel, I. Breitenmoser, R. Albrecht, H. Frima, C. Sommer, C. Mann Heft 2/2017

Kinderschlafmedizin A. Wiater Heft 1/2016

Morphologie der Hautkrankheiten im Kindesalter A. Striegel, C. Mauch, I. Tantcheva-Poór Heft 4/2015

Zystische Nierenerkrankungen und Ziliopathien C. Bergmann Heft 2/2014

Moderne Bildgebungstechniken in der pädiatrischen Radiologie G. Staatz, M. Stenzel, H.-J. Mentzel Heft 1/2014

Kinder- und Jugendgynäkologie in der Praxis F. Baltzer Heft 3/2013

Reisemedizinische Beratung in der Kinder- und Jugendarztpraxis A. Spies Heft 1/2013

Apparative Therapie von Hörstörungen A. Koitschev, C. Koitschev, A. Limberger Heft 4/2012

Hauterkrankungen des Säuglings L. Weibel, M. Theiler, L. Feldmeyer Heft 2/2012

Mundgesundheit bei Kindern – Wichtiges für den Pädiater J. Einwag Heft 4/2011

Zahnfehlstellungen und orofaziale Dysfunktionen F. Stahl de Castrillon, R. Grabowski Heft 3/2011

Enuresis und funktionelle Harninkontinenz R. Beetz 4/2010

Schielen S. Pitz, H. Elflein Heft 3/2010

Thermische Verletzungen im Kindesalter U. Mehlig, T. Hannmann, S. Loff Heft 1/2010

Nahrungsmittelallergien M. Radke Heft 4/2009

Fieberassoziierte Anfälle M. von Rhein, M. Knuf Heft 3/2009

Differenzialdiagnose Hämaturie R. Beetz Heft 2/2007

Hörstörungen – Ursachen und Therapie H. Heumann Heft 1/2007

Hörprüfung im Säuglings- und Kindesalter R. Boppert Heft 1/2007

ALLES ONLINE LESEN

Mit der eRef lesen Sie Ihre Zeitschrift: online wie offline, am PC und mobil, alle bereits erschienenen Artikel. Für Abonnenten kostenlos! https://eref.thieme.de/paed-u2d

JETZT FREISCHALTEN

Sie haben Ihre Zeitschrift noch nicht freigeschaltet? Ein Klick genügt: www.thieme.de/eref-registrierung

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Thieme

Gentherapie in der Pädiatrie – bereits Realität oder noch immer Fiktion?

Deborah Bartholdi

Genetische Testverfahren spielen mittlerweile in vielen Disziplinen der Medizin eine wichtige Rolle bei der Diagnosefindung. Zudem hat die molekulargenetische Forschung maßgeblich dazu beigetragen, die Pathogenese vieler Krankheiten besser zu verstehen. Führt dieser Wissenszugewinn um die genetischen Grundlagen jedoch auch zur Entwicklung von neuen therapeutischen Ansätzen? Haben sich die Hoffnungen erfüllt, die in die Gentherapie gesetzt wurden?

Einleitung

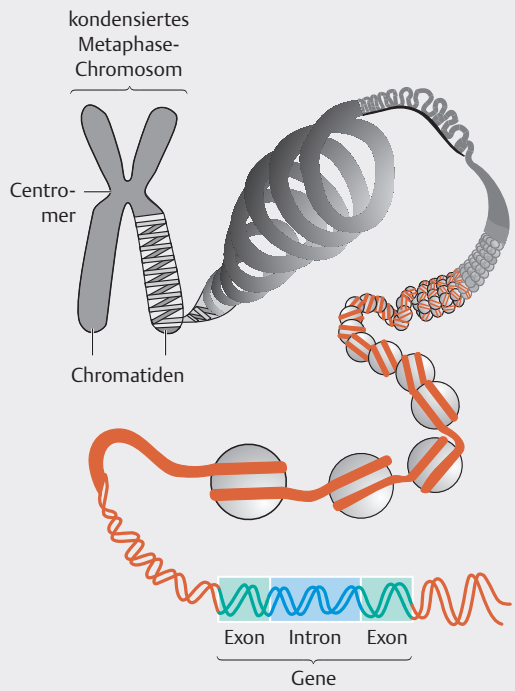
Die großen medizinischen Fortschritte der letzten beiden Jahrhunderte haben dazu geführt, dass mittlerweile eine Vielzahl von Erkrankungen – darunter vor allem Infektionskrankheiten – behandelbar oder sogar heilbar sind. Für die große Gruppe der erblichen (genetischen oder genomischen) Erkrankungen gibt es jedoch kaum wirksame Behandlungen. Die Ursachen solcher Erkrankungen liegen in vererbten oder spontan aufgetretenen Veränderungen in einem Gen (monogene Erkrankungen, z. B. zystische Fibrose) oder im Zugewinn oder Verlust ganzer Chromosomen oder Chromosomenabschnitte (genomische Erkrankungen, z. B. Trisomie 21; ▸ **Abb. 1**).

Merke

Pathogene Veränderungen in einem Gen wurden früher als „Mutationen" bezeichnet – heute spricht man eher von „Genvarianten".

Mit der Einführung von neuen Technologien (z. B. der Microarray-Analyse und der Hochdurchsatzsequenzierung) hat sich die Diagnostizierbarkeit von seltenen (und auch häufigeren) genetischen und genomischen Erkrankungen verbessert. Daher hat die Bedeutung der Genetik in den letzten Jahren stark zugenommen. Im sog. OMIM-Katalog (Online Mendelian Inheritance in Men; einer umfassenden Datenbank, die vom „National Center for Biotechnology Information" verwaltet wird) sind aktuell über 4000 genetische und genomische Krankheiten aufgelistet [1].

Die bessere Diagnostizierbarkeit dieser Erkrankungen und das vertiefte Wissen um deren Pathogenese bringen auch den Ruf nach verbesserten therapeutischen Möglichkeiten mit sich: Trotz Wissen um die molekularen Grundlagen lässt sich nämlich nur ein kleiner Teil der genetischen Erkrankungen mit pharmakologischen, diäteti-



▸ **Abb. 1** Die Organisation des Genoms: genomische und monogene Erkrankungen. Das menschliche Genom ist in 23 Chromosomenpaare angeordnet. Die DNA-Doppelhelix windet sich um die Histon-Proteine und Nukleosomen und bildet so Chromatinfäden (Komplexe aus DNA und Proteinen). Diese sind verdrillt und in Schleifen gelegt, wobei das Ausmaß der Kondensierung vom Zellzyklus abhängt. Das menschliche Genom besteht aus über 3 Milliarden Basenpaaren und ungefähr 21 000 Genen. Liegt eine numerische oder strukturelle Aberration der Chromosomen vor, spricht man von einer genomischen Erkrankung. Beispiele sind die Trisomie 21 (47,XY,+21) oder die Mikrodeletion 22q11.2. Für monogene Erkrankungen sind Veränderungen (Mutationen oder Varianten) in einem einzigen Gen verantwortlich. Beispiele für monogene Erkrankungen sind die zystische Fibrose und die Muskeldystrophie Typ Duchenne.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

GLOSSAR GENETISCHER BEGRIFFE

Allel	Allele sind die Zustandsformen eines Gens. Allele auf den Autosomen (Nicht-Geschlechtschromosomen) liegen diploid vor, also in 2 Kopien.
ASO	Antisense-Oligonukleotid Kleines RNA-Fragment, das das Spleißen der prä-RNA beeinflussen kann.
biallelische Mutationen	Es liegen ursächliche Mutationen in beiden Genkopien vor, dem autosomal-rezessiven Erbgang entsprechend.
CRISPR/Cas9	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9 Instrument zur Genomeditierung, Genschere aus Enzym und RNA.
DNA, DNS	Desoxyribonukleinsäure Makromolekül, das aus den Nukleotiden Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin zusammengesetzt ist. Es bildet die Doppelhelix, Trägerin der Erbsubstanz.
Episom	Ringförmiges, extrachromosomales DNA-Molekül.
Haploinsuffizienz	Die Krankheitssymptome werden durch den Funktionsverlust eines Allels verursacht.
Hochdurchsatzsequenzierung	Sequenzierverfahren, mit dem sich in einem Ansatz eine Vielzahl von Genen oder sogar das gesamte Genom analysieren lassen.
LCA	Leber'sche kongenitale Amaurose Schwere hereditäre Netzhautdystrophie mit Beginn im Säuglings- oder Kindesalter.
Liposomen	Mit Flüssigkeit gefüllte kleine Vesikel, deren Hülle aus einer Lipid-Doppelschicht besteht.
Messenger RNA (Boten-RNA)	Ribonukleinsäure Ist ähnlich wie die DNA aus Nukleotiden aufgebaut (Adenin, Uracil, Guanin und Cytosin), liegt als Einzelstrang vor, entsteht beim Prozess der Transkription, wobei der DNA-Strang kopiert wird.
Microarray-Analyse	Hochauflösende Chromosomenanalyse.
NMD	Nonsense-mediated Decay Degradation der mRNA bei Vorliegen einer Nonsense-Mutation.
RP	Retinitis pigmentosa Hereditäre Netzhautdystrophie.
SMA	Spinale Muskelatrophie
TRIDs	Translational Read-through inducing Drugs Medikamente, die das Überlesen von Nonsense- oder Frameshift-Mutationen induzieren.

schen oder besonderen Verhaltensmaßnahmen günstig beeinflussen.

Merke

Ziel der Gentherapie ist es, bei möglichst vielen Entitäten aus der Gruppe der erblichen Erkrankungen eine Symptomlinderung oder gar Heilung zu erreichen.

Ein vielversprechender Ansatz dazu ist die Genersatztherapie oder Genkorrektur. Dabei soll das mangelhafte Funktionieren oder Fehlen einer Erbanlage durch Einfügen einer intakten Genkopie ins Genom des Patienten korrigiert werden. Gewisse Krankheiten werden aber nicht durch eine mangelhafte Genkopie, sondern den störenden Effekt einer *veränderten* Genkopie verursacht (sog. dominant-negative Mutationen). Bei dieser Mutationsgruppe wird eine Genkorrektur mithilfe von spezifischen Nukleasen und Reparaturvorlagen (z. B. CRISPR/Cas9) angestrebt. Diese Technologie birgt auch großes Potenzial bei den (genetisch und nicht genetisch bedingten) Krebserkrankungen. Neben der Gentherapie im engeren Sinne wurden für verschiedene monogene Erkrankungen auch sog. „modulierende" Substanzen entwickelt, die die fehlerhaften Genkopien nicht ersetzen oder ausschalten, sondern das Prozessieren der Genprodukte beeinflussen. Diese Genmodulatoren sind jedoch oft nur bei ganz spezifischen Mutationen wirksam (Präzisionsmedizin).

Merke

Monogene Erkrankungen können sowohl durch den Funktionsverlust (sog. Haploinsuffizienz) als auch durch den gesteigerten „störenden" Effekt einer Genveränderung (sog. dominant-negativer Effekt) verursacht werden.

Die 1. Gentherapie wurde 1990 in den USA an einem 4-jährigen Mädchen durchgeführt, das an einer Immunschwäche litt, verursacht durch einen Defekt des Enzyms Adenosin-Deaminase (ADA). Mithilfe dieser Behandlung konnte die Stoffwechselerkrankung zwar therapiert werden, allerdings erkrankte die kleine Patientin einige Zeit später im Zusammenhang mit der Gentherapie an einer Leukämie. Die potenziell sehr gefährlichen Nebenwirkungen von Gentherapien zeigten sich auch in den folgenden Jahren bei anderen Krankheitsbildern [2].

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Begriffsklärungen und Technologien

Somatische Gentherapie und Therapie der Keimbahn

Grundsätzlich muss zwischen der somatischen Gentherapie und derjenigen der Keimbahn unterschieden werden. Bei letzterer werden die genetischen Modifikationen sehr früh in der Embryonalentwicklung vorgenommen und betreffen u. U. auch die Keimzellen. Diese Veränderungen können somit an potenzielle Nachkommen weitervererbt werden. Genetische Eingriffe in die Keimbahn sind in den meisten Ländern verboten, in einigen Ländern gibt es diesbezüglich aber auch keine klaren Gesetze, z. B. in Russland und Singapur [3]. Die 2018 verbreitete Nachricht, dass in China die ersten genmanipulierten Zwillinge („Designer-Babys") zur Welt kamen, hat große Empörung und den Ruf nach Sanktionen ausgelöst: Mithilfe der Genschere CRISPR/Cas9 soll in künstlich befruchteten Embryonen das CCR5-Gen deaktiviert worden sein – und die Zwillinge somit resistent gegen das humane Immundefizienz-Virus (HIV) sein.

Merke

Die genetische Modifikation der Keimbahn ist in den meisten europäischen Ländern verboten.

Im Folgenden beschränken wir uns auf die somatische Gentherapie, die das Ziel hat, die Symptome der Patienten zu lindern oder zu heilen – jedoch nicht verhindern kann, dass diese die Erkrankung u. U. an ihre Nachkommen weitergeben werden.

Klinische Versuche zur somatischen Gentherapie und die Zulassung der entsprechenden Therapien unterliegen in den meisten Ländern einem aufwendigen mehrschrittigen Bewilligungsverfahren und i. d. R. ist auch eine Begutachtung durch die lokale Ethik-Kommission nötig.

Somatische Gentherapie: Ex-vivo- und In-vivo-Anwendung

Bei der somatischen Gentherapie unterscheidet man zwischen der Ex-vivo- und In-vivo-Therapie. Bei der Ex-vivo-Therapie werden dem Patienten Zellen entnommen und im Labor genetisch modifiziert, z. B. Immunzellen oder CD34+-Stammzellen zur Korrektur von hämatopoetischen Defekten. Anschließend werden die modifizierten Zellen zurücktransferiert. Meistens erfolgt dabei eine Addition des fehlerhaften Gens, z. B. des F8-Gens für den Gerinnungsfaktor VIII bei der geschlechtsgebunden vererbten Hämophilie A.

Der Ex-vivo-Therapieansatz spielt auch bei der Behandlung von Tumorerkrankungen eine wichtige Rolle: Man transferiert genetisch modifizierte Zellen, die eine hemmende oder regulierende Wirkung auf das Tumorwachstum ausüben. Dies kann z. B. mittels Transfer von T-Zellen erfolgen, die bestimmte Antigene exprimieren und so eine „genetische Immunisierung" gegen die Tumorzellen bewirken. Einen ähnlichen Effekt haben genetisch modifizierte Zellen, die ein toxisches Genprodukt ausschütten und so den Untergang von Tumorzellen herbeiführen oder das Ansprechen auf bestimmte Pharmazeutika erhöhen.

Im Gegensatz zur Ex-vivo-Therapie werden die gentechnologisch modifizierten Vektoren bei der In-vivo-Therapie direkt in den Körper des Patienten eingeschleust. Somit kann die aufwendige Gewinnung und Kultivierung von Patientenzellen umgangen werden. Die In-vivo-Therapie wird z. B. bei einem Transfer in die Leber oder ins Pigmentepithel der Retina angewendet.

Beiden Verfahren (ex vivo und in vivo) ist gemeinsam, dass die modifizierten DNA- oder RNA-Sequenzen mittels Vektoren in den Zellkern oder ins Zytoplasma eingeschleust werden müssen, um dort ihre Funktion ausüben zu können. Ziel ist ein effizienter Gentransfer ohne Toxizität. Abhängig davon, welche Vektoren verwendet werden, können unterschiedlich große DNA-Segmente in die Zielzellen eingebracht werden. Die zu integrierende „korrigierende" Genkopie kann dabei sowohl in teilungsfähige wie auch in ruhende (postmitotische) Zellen eingebaut werden.

Merke

Bei der Gentherapie unterscheidet man grundsätzlich zwischen der Genersatztherapie, der Genkorrektur und dem Einsatz von Genmodulatoren.

Verabreichung von „gesunden" Genkopien mittels viraler Vektoren (Genersatztherapie)

Retrovirale Vektoren als Gentransfersystem

Retrovirale Vektoren haben die Fähigkeit der DNA-Integration und reversen Transkription, sie können sich jedoch nicht selbstständig replizieren. Der Vorteil ist der stabile Einbau des therapeutischen Gens ins Genom des Patienten, was eine Langzeitwirkung gewähren soll. Dabei hängt es vom Zufall ab, an welcher Stelle im Genom der Vektor integriert wird. Daraus leitet sich auch ein grundsätzliches Risiko dieser Technologie ab:

Cave

Der ungezielte Einbau einer Genkopie kann die Funktion anderer Gene beeinträchtigen oder u. U. auch aktivieren.

Eine solche unbeabsichtigte schwerwiegende Nebenwirkung ist die „oncogenic insertional mutagenesis". Dieser Prozess bezeichnet das ungewollte Anschalten von Tu-

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

morgenen, wenn ein Genvektor an einer „falschen“ Stelle des Genoms eingebaut wird. Dieser Prozess wird auch als „Genotoxizität“ bezeichnet.

Adenoassoziierte virale Vektoren (AAV)

AAV-Vektoren stammen von einem nicht pathogenen Parvovirus ab. Der Nachteil der Adenoviren ist, dass sie nur relativ kleine DNA-Segmente von ungefähr 5 kb aufnehmen können. Zudem integrieren sich AAV nicht in die DNA der Zielzellen, sondern stabilisieren sich in extrachromosomalen ringförmigen Strukturen, den sog. „Episomen“. Die Anwendung der AAV ist deshalb auf Gewebe mit postmitotischen Zellen mit einer langen Lebensdauer beschränkt (z. B. Leber, Retina, Herzmuskel, ZNS).

Obwohl die AAV-Vektoren im Vergleich zu den retroviralen Vektoren ein geringeres Risiko für die „oncogenic insertional mutagenesis“ haben, bergen auch sie ein Risiko für potenziell lebensgefährliche Nebenwirkungen. Die am meisten gefürchtete Komplikation stellt hier eine Anti-AAV-Immunantwort dar, da viele Menschen Antikörper und Gedächtnis-T-Zellen gegen das AAV-Capsid tragen.

Merke

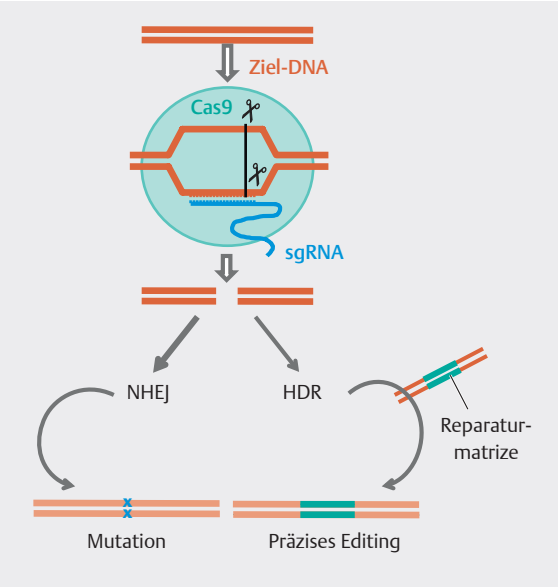
Die Gentherapie mittels viraler Vektoren kann potenziell lebensbedrohliche Komplikationen haben, z. B. das Ausschalten eines Tumorsuppressorgens oder eine schwere Immunantwort.

Genkorrektur mittels Genscheren und Genomeditierung

Im Gegensatz zur Genersatztherapie erlaubt die neue Technologie des Genomeditierens, die DNA eines Patienten gezielt und auf vielfältige Weise zu modifizieren (▸ **Abb. 2**).

Das Genomeditieren verläuft in 3 Schritten:

1. Finden der Zielsequenz: In einem 1. Schritt wird im menschlichen Genom die DNA-Sequenz angepeilt, die verändert werden soll. Dazu konstruiert man eine „Sonde“, die beim CRISPR/Cas9-Verfahren aus einem RNA-Molekül besteht (der sog. sgRNA, single guide RNA), die komplementär zu einem DNA-Abschnitt im Zielgen ist. Die RNA findet dann im Zellkern die gesuchte Zielsequenz und bindet diese.
2. Schneiden: Im 2. Schritt wird der DNA-Doppelstrang der Zielsequenz mit einer molekularen „Schere“ geschnitten. Beim CRISPR/Cas9-System ist diese Schere das Cas9-Protein, das an die RNA-Sonde gekoppelt ist.
3. Reparieren: Anschließend treten im 3. Schritt die zelleigenen Reparatursysteme in Aktion: Sie flicken den durchtrennten DNA-Doppelstrang wieder zusammen – allerdings meist mit kleinen Fehlern. Bei diesem Reparaturvorgang können auch einzelne DNA-Bausteine ausgetauscht oder neue Sequenzen eingebaut werden (Editieren). Somit können Mutationen korrigiert werden, die sowohl zu einem Funktionsverlust als auch zu einem Funktionsgewinn führen (Loss-of-Function- und Gain-of-Function-Varianten).



▸ **Abb. 2** CRISPR/Cas9-Technologie: Genome Editing. Mittels einer sog. sg-RNA (single guide) wird die Genschere (Cas9) an die Zielsequenz am DNA-Strang des Patienten geführt, die modifiziert werden soll. Dort veranlasst das Cas9-Enzym („molekulare Schere“) einen Doppelstrangbruch. Dieser wird entweder durch „non-homologous end joining“ (NHEJ) oder durch „homology-directed repair“ (HDR) repariert. Beim NHEJ entstehen meist kleine Fehler (Mutation), bei der HDR kann eine Reparaturmatrize verwendet werden, um die Zielsequenz spezifisch zu modifizieren. Somit können sowohl Gene ausgeschaltet wie auch neue Sequenzen eingebaut werden, was eine Korrektur von pathogenen Mutationen ermöglicht, indem Gensequenzen ausgetauscht werden. Quelle: Schermer B, Benzing T. Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9: Vorzeichen einer neuen Epoche der Medizin? DMW – Deutsche Medizinische Wochenschrift 2019; 144: 276–281

Der grundlegende Mechanismus dieser Methode (das Herbeiführen eines Bruchs im DNA-Doppelstrang und die anschließende Reparatur, die jedoch mit kleinen Fehlern vor sich geht) entspricht dem natürlichen Entstehen von spontanen Mutationen im menschlichen Genom.

Merke

Die Methode des Genomeditierens mittels der sog. Genscheren (z. B. CRISPR/Cas9) erlaubt es, im Genom des Patienten ganz gezielte Veränderungen vorzunehmen, z. B. Gene auszuschalten oder zu aktivieren.

Auch beim CRISPR/Cas9-System besteht ein gewisses Risiko, dass die Guide-RNA nicht an der gewollten Stelle des Genoms bindet und der DNA-Strang in der Folge an einer

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

falschen Stelle geschnitten wird, was als „off target effect“ bezeichnet wird. Solche unbeabsichtigten Mutationen scheinen relativ selten vorzukommen – sie sollten aufgrund der möglicherweise gravierenden Folgen für den Patienten aber verhindert werden. Die molekularen Werkzeuge (CRISPR-Sonden und molekularen Scheren) werden deshalb ständig weiterentwickelt, um die Zielgenauigkeit zu verbessern.

Im März 2016 erhielten Emmanuelle Charpentier und Jennifer A. Doudna, die beiden „Entdeckerinnen“ des CRISPR/Cas9-Systems, den renommierten Paul-Ehrlich-und-Ludwig-Darmstaedter-Preis – der Nobelpreis wurde ihnen bis jetzt verwehrt.

Wo stehen wir aktuell? Beispiele aus der Praxis

Gentherapeutische Behandlungsansätze werden bei vielen Krankheitsbildern diskutiert und klinische Studien sind in Vorbereitung. Die hier vorgestellten Studien stellen nur eine kleine Auswahl dar.

Muskeldystrophie Typ Duchenne

Die Muskeldystrophie vom Typ Duchenne (DMD; OMIM 310 200), die eine Prävalenz von 1 : 3500–1 : 5000 Jungen hat, ist seit Längerem Gegenstand gentherapeutischer Forschungen. Die Erkrankung wird durch Mutationen im Dystrophin-Gen verursacht, welches auf dem X-Chromosom lokalisiert ist, 79 Exone umfasst und mit 2,5 Megabasen das größte Gen des menschlichen Genoms darstellt. Die Größe des Gens hat bisher eine effektive Genersatztherapie verhindert.

Bei ungefähr 65 % der Patienten mit DMD liegen große intragenische Deletionen in 2 Hotspots am 5′-Ende bzw. in der zentralen Region des *DMD*-Gens vor. Diese Deletionen führen i. d. R. zu einer Verschiebung des Leserasters, wodurch ein vorzeitiger Stopp der Translation verursacht wird. Bei etwa 15 % der Betroffenen lassen sich Nonsense-Mutationen nachweisen.

Merke

Bei der Muskeldystrophie Duchenne kommen sowohl Medikamente zum Einsatz, die das Überlesen von Nonsense-Mutationen begünstigen, wie auch Antisense-Oligonukleotide (ASO), die den Spleißvorgang beeinflussen.

Folgende gentherapeutische Ansätze wurden bei der DMD bereits evaluiert:

Überlesen (read-through) von Nonsense-Mutationen

Nonsense-Mutationen sind dadurch gekennzeichnet, dass ein verkürztes, meist nicht mehr funktionelles Protein synthetisiert wird oder eine Degradation der mRNA über den „nonsense-mediated decay“ (NMD) eingeleitet wird. Ein gentherapeutischer Ansatz für diese Art von Mutationen ist das Überlesen („read-through“) der Mutation, was die Synthese eines vollständigen funktionellen Proteins erlauben sollte. Die hierbei eingesetzten Wirkstoffe werden als TRIDs („translational read-through inducing drugs“) bezeichnet. Die ersten Substanzen, die in dieser Wirkstoffgruppe identifiziert wurden, gehören zur Klasse der Aminoglykosid-Antibiotika. Diese weisen jedoch eine hohe Oto-, Nephro- und Retinotoxizität auf, weshalb besser verträgliche Substanzgruppen gesucht wurden. Modernere TRIDs sind z. B. Amlexanox und Ataluren, die ein verbessertes Verträglichkeitsprofil aufweisen.

Eine Vielzahl von präklinischen Studien hat die Überleseeffizienz von TRIDs bei Nonsense-Mutationen in verschiedenen Krankheitsbildern gezeigt und die Funktionalität der wiederhergestellten Proteine in Zellkultur, Tiermodellen und patientenspezifischen Zellen belegt. Die Ergebnisse aus klinischen Studien bei Duchenne-Patienten fielen jedoch ernüchternd aus, und die multizentrische placebokontrollierte Phase-III-Studie mit Atularen (Translarna) zeigte keinen signifikanten Effekt einer oralen Einnahme auf die Gehfähigkeit von schwer betroffenen Patienten [4, 5]. Atularen hat trotzdem von der Europäischen Union eine bedingte Marktzulassung für gehfähige Patienten ab 5 Jahren mit Nonsense-Mutation im *DMD*-Gen erhalten.

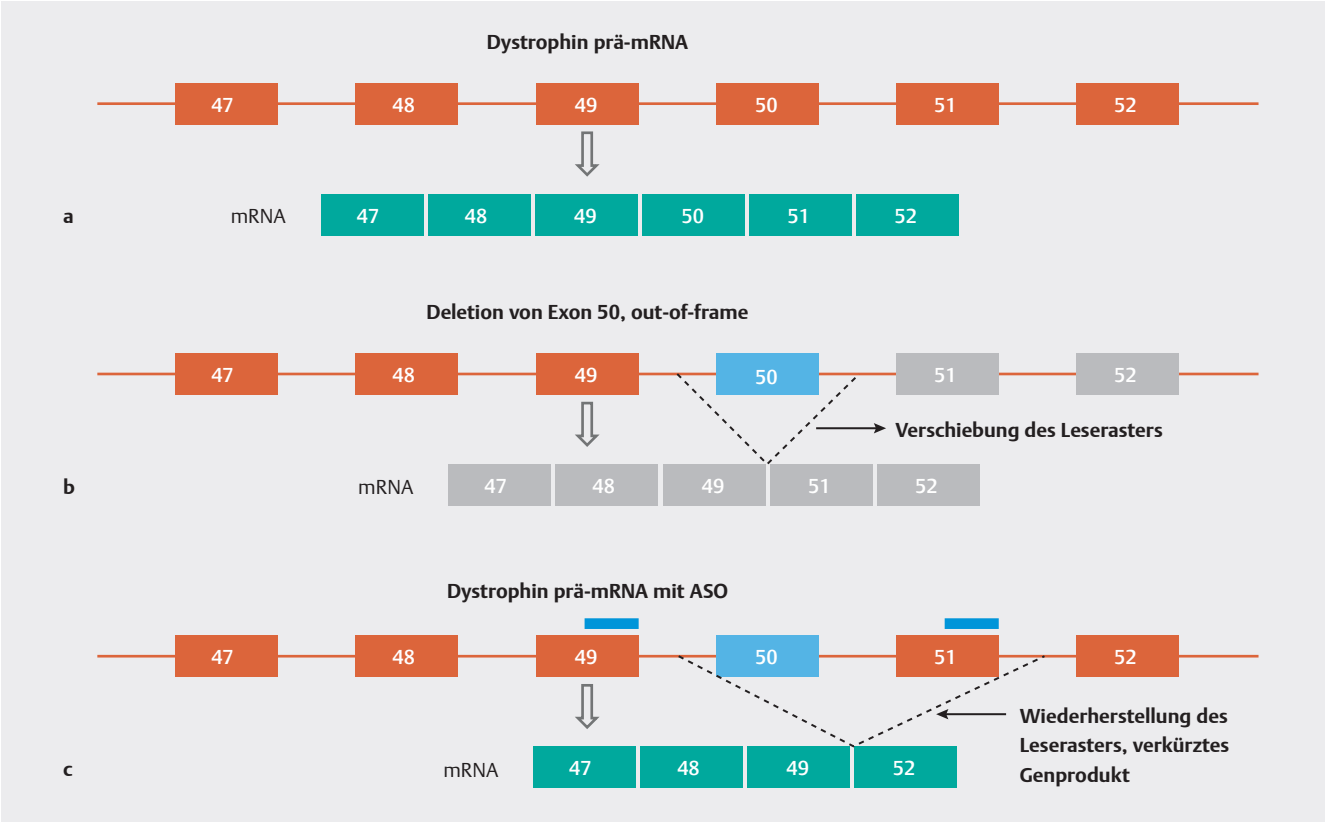
Modifikation des Dystrophin-mRNA-Spleißens: Exon-Skipping

Exon-Skipping mittels Antisense-Oligonukleotiden (ASO) ist eine therapeutische Form des alternativen Spleißens, bei dem bestimmte Spleißstellen vom Spleißapparat übergangen werden, sodass die ausgewählten Exone in der gespleißten RNA fehlen (▸ **Abb. 3**). Das *DMD*-Gen eignet sich für diese Therapiestrategie sehr gut, da viele DMD-Patienten große Deletionen mit einer Verschiebung des Leserasters aufweisen.

Für das Exon-Skipping werden Exone ausgewählt, die Out-of-Frame-Deletionen flankieren. Dann werden ASO generiert, die den Aufbau eines normalen Spleißapparats verhindern, sodass das Leseraster theoretisch wiederhergestellt werden kann. Dabei wird ein zwar verkürztes, aber teilfunktionelles Dystrophin-Eiweiß gebildet.

Das 1. ASO, das in klinischen Studien erprobt wurde (Drisapersen, Skipping von Exon 51), hatte in einer Phase-III-Studie das Therapieziel nicht erreicht. Für das Konkurrenzmedikament Eteplirsen (ebenfalls Skipping von Exon 51) wurden jüngst vielversprechende Ergebnisse mitgeteilt und dieses Medikament wurde mittlerweile in den USA zugelassen, nicht jedoch in Europa [6]. Weitere Studien zum Skippen anderer Exone (45 und 53) laufen aktuell noch.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.



▶ **Abb. 3** Exon-Skipping mittels Antisense-Oligonukleotiden (ASO) am Beispiel des *DMD*-Gens. Für das Exon-Skipping mittels ASO eignen sich vor allem Out-of-Frame-Deletionen, die zu einer Verschiebung des Leserasters und somit zu einem Abbruch der Translation führen (z. B. Deletion von Exon 50). Dadurch kann kein funktionstüchtiges Genprodukt gebildet werden. Die AOS (blaue Balken) binden an spezifische Motive derjenigen Exone, die die Out-of-Frame-Deletion flankieren. Somit wird der Aufbau des normalen Spleißapparats verhindert und das Leseraster wiederhergestellt. Als Resultat wird ein zwar verkürztes, aber teilfunktionelles Genprodukt gebildet.

Erfolgsgeschichte spinale Muskelatrophie (SMA)

Antisense-Oligonukleotid-Nusinersen

Die 1. in Europa für die SMA zugelassene Gentherapie beruht ebenfalls auf der Antisense-Technologie, womit das alternative Spleißen des Back-up-Gens *SMN2* verbessert werden soll (▶ **Abb. 4**).

Merke

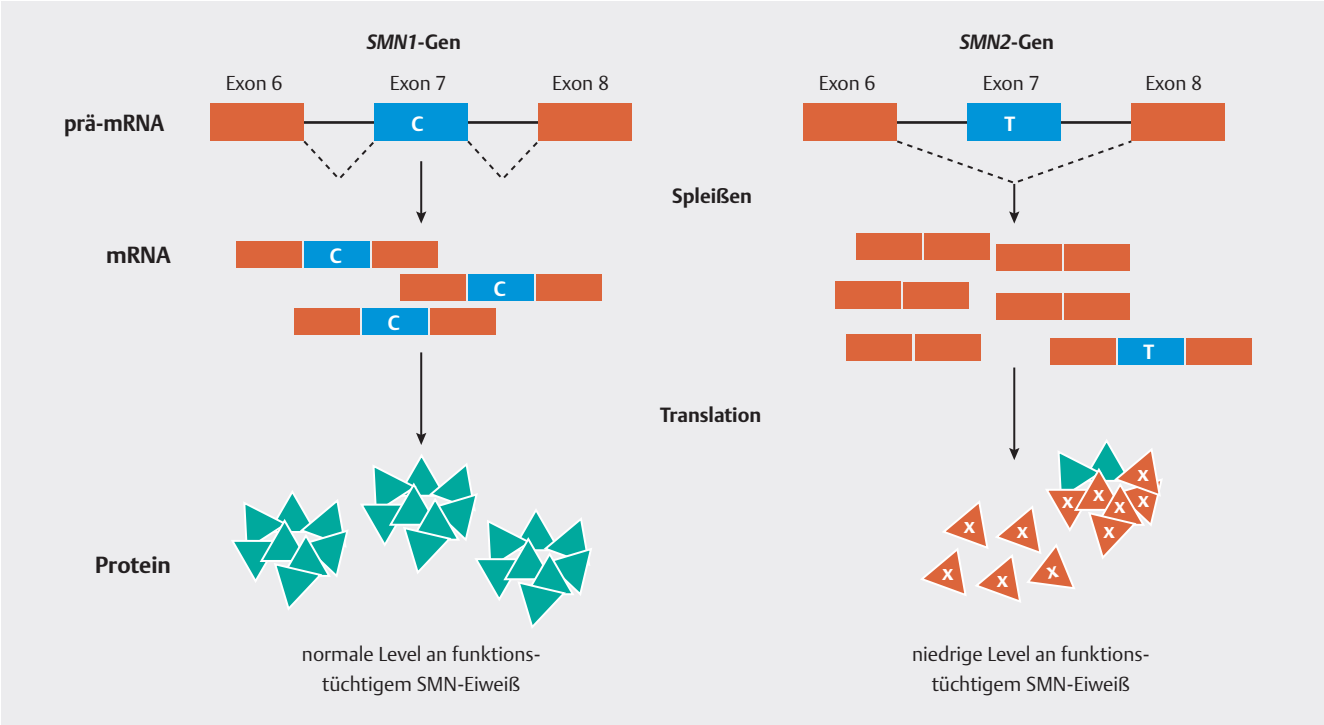
Die spinale Muskelatrophie ist für eine Gentherapie mittels Antisense-Oligonukleotiden besonders geeignet, da neben dem *SMN1*-Gen ein sog. „Back-up-Gen" (*SMN2*-Gen) liegt.

Das synthetische ASO-Nusinersen (Spinraza) bindet an eine bestimmte Stelle der *SMN2* prä-mRNA, womit das Spleißen von Exon 7 verhindert wird und das *SMN2*-Gen in ein FL-*SMN2*-Transkript (full length) umgewandelt wird. Dieses entspricht funktionell dem *SMN1*-Gen, von dem ein stabiles Volllängenprotein abgelesen werden kann. Studien haben gezeigt, dass dadurch die Menge an korrekt übersetzter *SMN*-RNA um das ca. 2,5-Fache gesteigert werden kann.

Nusinersen modifiziert also das alternative Spleißen des *SMN2*-Gens und erhöht so den Anteil an stabilem funktionellen Survival-of-Motor-Neuron-Eiweiß. Die EMA (European Medicine Agency) hatte Nusinersen im Sommer 2017 die Marktzulassung in der Europäischen Gemeinschaft erteilt. Die Swissmedic, die Schweizerische Zulassungs- und Aufsichtsbehörde für Heilmittel, beurteilte Nusinersen im Dezember 2017 positiv. Das Medikament ist auch in den USA, Brasilien, Japan und Kanada zugelassen, in weiteren Ländern laufen Zulassungsanträge.

Die Zulassung basiert auf den Ergebnissen zweier multizentrischer, kontrollierter Studien mit intrathekaler Verabreichung von Nusinersen (ENDEAR, Patienten mit der infantilen SMA Typ I und CHERISH-Patienten im Alter zwischen 2–12 Jahren mit SMA Typ II und III) [7, 8]. Die placebokontrollierten Phase-III-Vorläuferstudien wurden jeweils nach einer positiven Zwischenauswertung vorzeitig beendet. Beide Studien belegen die klinisch relevante Wirksamkeit, sowohl im Hinblick auf eine Verbesserung der motorischen Fähigkeiten (ENDEAR und CHERISH) als auch auf das Überleben (ENDEAR) [9]. Negative Punkte sind die Tatsache, dass die Substanz intrathekal appliziert

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.



▶ **Abb. 4** Genetische Grundlagen der spinalen Muskelatrophie (SMA). Das *SMN2*-Gen unterscheidet sich vom *SMN1*-Gen durch einen einzigen – aber kritischen – Nukleotidaustausch in Exon 7 (C→T), der bewirkt, dass beim Spleißen des *SMN2*-Gens bei etwa 90 % der mRNA-Moleküle das Exon 7 (blau) herausgeschnitten wird. Dies bewirkt eine Instabilität und somit einen Abbau der mRNA. Von den restlichen 10 % mRNA-Molekülen des *SMN2*-Gens wird ein vollständiges und somit funktionstüchtiges Genprodukt abgelesen. Das Vorhandensein dieses – zwar etwas fehlerhaften – *SMN2*-Gens hat sich die Wissenschaft nun bei der Entwicklung einer Gentherapie für die SMA zunutze gemacht: Das synthetische ASO-Nusinersen bindet und überbrückt die fehlerhafte Stelle der *SMN2*-prä-mRNA, womit das Spleißen von Exon 7 verhindert wird und das *SMN2*-Gen in voller Länge abgelesen werden kann.

FALLBEISPIEL

Spinale Muskelatrophie

Familie R. erwartet aktuell ihr 3. Kind. Der erstgeborene Sohn ist gesund, die zweitgeborene Tochter verstarb im Alter von 14 Monaten an einer SMA Typ I. Die genetische Abklärung der Eltern ergab, dass diese heterozygote Anlageträger für die SMA sind, das Wiederholungsrisiko beträgt somit 25 %. Familie R. entschied sich bewusst gegen eine pränatale genetische Abklärung in der aktuellen Schwangerschaft.

Der Sohn kommt als Frühgeburt in der 36. SSW zur Welt und ist sehr hypoton. Er wird unmittelbar nach der Geburt auf Vorliegen einer SMA getestet. Dabei zeigt sich, dass er – wie seine verstorbene Schwester – eine homozygote Deletion des *SMN1*-Gens aufweist. Einige Tage nach Sicherung der Diagnose SMA erhält er die 1. intrathekale Injektion mit Nusinersen.

INFO

Proximale spinale Muskelatrophie (SMA): Eine Erkrankung mit unterschiedlichen Verlaufsformen

Die SMA ist eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung, die durch den fortschreitenden Verlust von Motoneuronen im Rückenmark und im unteren Hirnstamm gekennzeichnet ist. Sie wird gemäß dem Erkrankungsbeginn, den erlernten motorischen Fähigkeiten und der Lebenserwartung in mehrere Untertypen eingeteilt. Bei der schwersten Form (Typ I, Werdnig-Hoffmann) machen sich die Krankheitszeichen bereits innerhalb der ersten 6 Lebensmonate bemerkbar: Die Kinder entwickeln eine Ateminsuffizienz und Schluckstörung, müssen künstlich beatmet werden und versterben unbehandelt oft vor dem 2. Lebensjahr. Beim Typ II (intermediäre SMA) und Typ III (Kugelberg Welander) ist der klinische Verlauf günstiger.

Die SMA wird bei der Mehrzahl der Betroffenen durch homozygote Deletionen des *SMN1*-Gens verursacht, das für das SMN-Protein (survival of motor neuron) kodiert. Der Schweregrad der SMA korreliert invers mit der Kopiezahl eines 2. SMN-Gens (*SMN2*, „Back-up-Gen“): Patienten mit der schwer verlaufenden SMA Typ I tragen 1–2 *SMN2*-Kopien, Patienten mit SMA Typ II oder III meist 3 oder mehr.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

werden muss und nach einer Aufsättigungsdosis wiederholte Applikationen nötig sind.

Die Auswertung der ersten Daten hat gezeigt, dass der Therapieerfolg von Nusinersen maßgeblich davon abhängt, wann mit der Therapie begonnen wird: Die Substanz sollte möglichst rasch verabreicht werden, um möglichst viele Motoneuronen in der vulnerablen Phase nach der Geburt zu retten. Deshalb wird in einigen europäischen Ländern aktiv an der Implementierung eines Neurogeborenen-Screenings für die SMA gearbeitet.

AAV-Vektor vermittelte Genersatztherapie

Im November 2017 wurden die ersten Resultate einer SMA-Genersatztherapie Phase-I-Studie in den USA veröffentlicht [10]. In die Studie wurden 15 Neugeborene mit einer SMA Typ I eingeschlossen, die eine einmalige intravenöse Gabe einer funktionellen SMN1-Genkopie erhielten. 12 Kinder erhielten eine hohe Dosis, 3 Kinder eine niedrige Dosis. Als Genvektor diente das scAAV9-Virus (self-complementary adeno-associated viral serotype 9; Avexis). Dieses Virus kann die Blut-Hirn-Schranke überwinden und somit das Zielorgan, die Motoneuronen, erreichen. Nach einer Beobachtungszeit von 20 Monaten lebten alle 12 Kinder, die die höhere Dosis erhalten hatten, ohne Beatmung. Daten über den natürlichen Verlauf der SMA zeigen, dass nur 8% der Kinder mit einer SMA Typ I mit 20 Monaten noch ohne Beatmung leben. Die Herstellerfirma Avexis hat 2018 eine Phase-III-Studie in 8 europäischen Ländern initiiert, in die Patienten mit SMA Typ I wie auch andere SMA-Typen aufgenommen wurden.

Zystische Fibrose

Die zystische Fibrose (CF) gilt seit Längerem als ideale Kandidatin für eine Gentherapie. Sie ist bei Kindern europäischer Herkunft die häufigste monogene Erkrankung und wird durch Mutationen im *CFTR*-Gen (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) verursacht, das einen Chloridkanal reguliert. Wenn in den Membranen der Epithelzellen ein funktionsfähiges CFTR-Eiweiß fehlt, wird Schweiß mit hoher Salzkonzentration produziert und Schleimsekrete mit abnorm hoher Viskosität. Als Folge davon kommt es u. a. zu rezidivierenden bronchialen Infekten und einer Pankreasinsuffizienz.

Ein möglicher gentherapeutischer Ansatz bei diesem Krankheitsbild besteht darin, eine funktionierende Genkopie in die Zelle einzuschleusen. 2015 wurde eine Studie des UK Cystic Fibrosis Gene Therapy Consortium veröffentlicht, bei welcher 140 CF-Patienten monatlich einen Stoff inhalierten, der aus in Liposomen „verpackten" CFTR-Genkopien oder Placebo bestand [11]. Die mittels Wirkstoff behandelten Patienten wiesen eine signifikant bessere Lungenfunktion auf, wobei dieser Effekt klein war. Auch bei dieser Studie zeigte sich, dass die größte Herausforderung der Transfer der funktionstüchtigen Genkopie in die Zelle ist, und somit blieb die erhoffte hohe Wirksamkeit der Genersatztherapie bisher bei der CF aus. Analog zur SMA wird bei der CF an präklinischen Studien über das Einschleusen einer Korrektur-mRNA gearbeitet.

FALLBEISPIEL

Zystische Fibrose (CF)

E. ist das 1. Kind gesunder, nicht blutsverwandter Eltern, die aus der Schweiz respektive Italien stammen. Die Familienanamnese ist unauffällig im Hinblick auf genetische Erkrankungen.

Postnatal manifestiert sich bei E. ein Mekoniumileus und im Rahmen des Neugeborenen-Screenings für die CF, das seit 2011 in der Schweiz implementiert ist, wird ein pathologischer IRT-Wert (immunreaktives Trypsinogen) gemessen. Eine molekulargenetische Testung für die häufigsten CF-Mutationen fällt negativ aus, der Schweißtest ist jedoch positiv. Eine Sequenzierung des gesamten CFTR-Gens zeigt, dass E. compound heterozygot für 2 Nonsense-Mutationen ist, G542X und W1282X. Dabei handelt es sich um zwei „schwere" Klasse-I-Mutationen, die leider nicht für den Einsatz von CFTR-Modulatoren qualifizieren.

Aufgrund der bei E. vorliegenden *CFTR*-Mutationen kann somit keine spezifische CF-Therapie angeboten werden.

Bereits vor mehreren Jahren war der Einsatz von sog. CFTR-Modulatoren in den Vordergrund der CF-Forschung gerückt. Damit werden Moleküle bezeichnet, die den defekten Ionenkanal nicht ersetzen, seine Funktion jedoch positiv beeinflussen. Dabei soll z. B. die Leitfähigkeit des Ionenkanals verbessert werden („gating") oder der Reifungsprozess von CFTR-Molekülen effizienter ablaufen, damit eine größere Anzahl an ihren Wirkort an der Zelloberfläche gelangt. Das Mutationsspektrum des *CFTR*-Gens umfasst über 2000 Varianten, die unterschiedliche Auswirkungen auf die Funktionsweise des Ionenkanals haben. Die CFTR-Modulatoren müssen deshalb gemäß ihrem Wirkmechanismus eingesetzt werden und können nur bei spezifischen Mutationen oder in Kombination verabreicht werden.

Merke

Bei der zystischen Fibrose werden sog. CF-Modulatoren eingesetzt, die jedoch nur bei ganz bestimmten Mutationen Wirkung zeigen.

In den letzten Jahren wurden mehrere CFTR-Modulatoren – die entsprechend ihrer Funktion auch als „Potenziatoren", „Amplifier" oder „Korrektoren" bezeichnet werden – klinisch zugelassen (Ivacaftor, Tezacaftor, Lumaca-

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

factor). Bisher sind CFTR-Modulatoren jedoch erst für die Behandlung von Patienten mit den Mutationen G551D und F508del im CFTR-Gen zugelassen, wobei in den klinischen Studien jeweils eine moderate Verbesserung der Lungenfunktion nachgewiesen werden konnte [12 – 14].

Zusammenfassend hat der Einsatz von CFTR-Modulatoren die medikamentöse Therapie bei der CF grundsätzlich verändert, allerdings muss die Wirksamkeit der verschiedenen Substanzen noch deutlich verbessert werden. Aufgrund der eingeschränkten Einsetzbarkeit bei spezifischen Mutationsgruppen können nicht alle Patienten von dieser Therapie profitieren.

Retinitis pigmentosa, Leber'sche kongenitale Amaurose

Bei der Retinitis pigmentosa (RP) handelt es sich um eine heterogene Erkrankungsgruppe. Das Leitsymptom ist eine Netzhautdystrophie mit fortschreitendem Verlust der Photorezeptoren und des Pigmentepithels der Netzhaut. Sie führt i. d. R. nach mehreren Jahrzehnten zur Erblindung. Die Erkrankung ist klinisch und genetisch extrem heterogen.

Eine besonders schwer verlaufende Form der RP ist die Leber'sche kongenitale Amaurose (LCA), die bereits innerhalb des 1. Lebensjahres mit einer deutlichen Sehbehinderung einhergeht. Die Prävalenz der LCA liegt bei etwa 1 : 30 000–1 : 50 000 Lebendgeburten. Diese Erkrankung macht ungefähr 5 % aller Netzhautdystrophien und 20 % der Erblindung bei Kindern im Schulalter aus. Angesichts der schweren Beeinträchtigung des Visus und des relativ leicht zugänglichen Zielorgans (Netzhaut) wurden bei der LCA und RP schon sehr lange viele Hoffnungen in die Gentherapie gesetzt.

Bereits 2007 wurde mit den ersten Versuchen einer Gentherapie bei LCA-Patienten begonnen, die biallelische Mutationen im *RPE65*-Gen tragen. Mutationen in diesem Gen liegen bei ungefähr 10 % aller Patienten mit LCA vor, bei Patienten mit klassischer RP ist der Anteil an *RPE65*-Mutationen geringer. Das *RPE65*-Gen kodiert für eine Hydrolase, die für das Recycling von 11-cis-Retinal benötigt wird, dem lichtempfindlichen Bestandteil des Sehpurpurs in den Photorezeptoren der Retina. Die ersten Versuche, bei denen den Betroffenen ein Adenovirus (AAV2) mit einer intakten Kopie des *RPE65*-Gens unter die Netzhaut des Augapfels injiziert wurde (Voretigene neparvovec, Luxturna), zeigten positive Resultate.

Insbesondere haben diese Studien bestätigt, dass die Gentherapie am Auge sicher durchgeführt werden kann [15]. Der positive Effekt der Gentherapie auf die Lichtempfindlichkeit der Netzhaut wurde in Folgestudien bestätigt [16] und in den USA hat die FDA 2017 eine Zulassung für die Gentherapie für *RPE65* mit Voretigen neparvovec erteilt. Novartis teilte im Herbst 2018 mit, dass auch in Europa mit einer baldigen Marktzulassung für Patienten mit biallelischen Mutationen im *RPE65*-Gen zu rechnen ist.

Merke

Bei der Leber'schen kongenitalen Amaurose (verursacht durch Mutationen im *RPE65*-Gen) handelt es sich um die 1. Retinadystrophie, für welche in Europa eine Marktzulassung für eine Gentherapie mit einem Adenovirus erteilt wurde.

Ähnliche Ansätze mit Verabreichung einer funktionellen Genkopie mittels eines viralen Vektors wurden auch bei anderen Retinadystrophien versucht, z. B. bei der geschlechtsgebunden vererbten Choroideremie, die durch Mutationen im *CHM*-Gen verursacht wird. Bei diesem Krankheitsbild entwickeln die betroffenen Jungen bereits in der Kindheit eine Nachtblindheit und Einschränkung des Gesichtsfelds und erblinden im Verlauf oft komplett. Bei der Choroideremie gibt es aber widersprüchliche Daten bezüglich des Outcomes der Gentherapie [17, 18].

Merke

Trotz der Erfolge bei der LCA verdeutlichen sich bei den hereditären Retinadystrophien aber auch die Probleme der Gentherapie: Es bleibt offen, ob es sich bei den berichteten Verbesserungen der Lichtempfindlichkeit um eine zeitlich begrenzte Wirkung handelt.

Zudem ist die RP durch eine ausgesprochene genetische Heterogenität gekennzeichnet, wie sie bei vielen hereditären Erkrankungen beobachtet wird. Retinadystrophien können durch Mutationen in mehr als 200 Genen verursacht werden, die individuell alle relativ selten sind. Die Entwicklung von spezifischen gentherapeutischen Ansätzen für die individuellen Krankheitsbilder ist somit sehr aufwendig.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

KERNAUSSAGEN

- In der Gentherapie konnten in den letzten Jahren wichtige Fortschritte erzielt werden, und für einige der häufigeren monogenen Erkrankungen (wie die zystische Fibrose und die spinale Muskelatrophie) gibt es vielversprechende Behandlungsansätze.
- Dabei werden verschiedene Methoden angewandt, z. B. Exon-Skipping mittels Antisense-Oligonuklotiden oder das Überlesen von Nonsense-Mutationen.
- Die Therapien beschränken sich jedoch oft auf spezifische Mutationstypen, sodass nicht alle Patienten behandelt werden können.
- Ein neuer vielversprechender Therapieansatz für eine Vielzahl von genetischen Erkrankungen stellt die Genkorrektur mithilfe von spezifischen Genscheren und Reparaturvorlagen dar, z. B. das CRISPR/Cas9-Verfahren.
- Allen Therapieansätzen ist gemeinsam, dass sie sehr hohe Kosten verursachen. Entsprechend wird auch die gesundheitspolitische Diskussion kontrovers geführt, ob diese Therapien angesichts der teilweise lediglich geringen gesundheitlichen Verbesserungen und des ungewissen Effekts auf die längerfristige Prognose der Patienten überhaupt gerechtfertigt sind.
- Zudem sollte eine gesellschaftspolitische Diskussion über die ethischen Implikationen der Gentherapie geführt werden: Wird der Wunsch nach besserer Therapierbarkeit oder gar Heilung von genomischen/genetischen Erkrankungen dazu führen, dass Menschen mit Krankheiten, Fehlbildungen oder einer geistigen Behinderung immer mehr diskriminiert werden?
- In diesem Zusammenhang ist es wichtig, international bindende Standards für die aktuelle und zukünftige Forschung zu etablieren, damit nicht die Entscheidung einer einzelnen Forschergruppe Gültigkeit hat, sondern diejenige der internationalen Gemeinschaft der Wissenschaftler.

Interessenkonflikt

Die Autorin gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Autorinnen/Autoren

Deborah Bartholdi

PD Dr. med., Medizinstudium und Promotion an der Universität Zürich, im Anschluss daran Arbeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin. 2004 Fachärztin für Medizinische Genetik, seit 2015 Oberärztin an der Universitätsklinik für Kinderheilkunde in Bern. Schwerpunkte: genetische Grundlagen von Entwicklungsstörungen (geistige Behinderung, Autismus-Spektrum-Störungen, Epilepsie) sowie Genetik der Bewegungsstörungen.

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. Deborah Bartholdi
Fachärztin für Medizinische Genetik FMH
Universitätsklinik für Kinderheilkunde, Inselspital Bern
Abteilung für Humangenetik
CH-3010 Bern
Deborah.Bartholdi@insel.ch

Wissenschaftlich verantwortlich gemäß Zertifizierungsbestimmungen

Wissenschaftlich verantwortlich gemäß Zertifizierungsbestimmungen für diesen Beitrag ist Dr. med. Deborah Bartholdi, Bern, Schweiz.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Literatur

[1] Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Im Internet: https://omim.org; Stand: 23.05.2019

[2] Dunbar CE, High KA, Joung JK et al. Gene therapy comes of age. Science 2018; 359: eaan4672. doi:10.1126/science.aan4672

[3] Ormond K, Mortlock D, Scholes D et al. Human Germline Genome Editing. Am J. Hum Genet 2017; 101: 167–176. doi:10.1016/j.ajhg.2017.06.012

[4] Haas M, Vlcek V, Balabanov P et al. European Medicines Agency review of ataluren for the treatment of ambulant patients aged 5 years and older with Duchenne muscular dystrophy resulting from a nonsense mutation in the dystrophin gene. Neuromuscul Disord 2015; 1: 5–13. doi:10.1016/j.nmd.2014.11.011

[5] McDonald CM, Campbell C, Torricelli RE et al. Ataluren in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy (ACT DMD): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet 2017; 390: 1489–1498. doi:10.1016/S0140-6736(17)31611-2

[6] Aartsma-Rus A, Goemans N. A Sequel to the Eteplirsen Saga: Eteplirsen Is Approved in the United States but Was Not Approved in Europe. Nucl Acid Ther 2018; 29. doi:10.1089/nat.2018.0756

[7] Finkel R, Chiriboga CA, Vajsar J et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. Lancet 2016; 388: 3017–3026. doi:10.1016/S0140-6736(16)31408-8

[8] Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA et al. Nusinersen versus Sham Control in Later-Onset Spinal Muscular Atrophy. N Engl J Med 2018; 378: 625–635. doi:10.1056/NEJMoa1710504

[9] Finkel RS, Mercuri E, Darras BT et al. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. N Engl J Med 2017; 377: 1723–1732. doi:10.1056/NEJMoa1702752

[10] Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R et al. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. N Engl J Med 2017; 377: 1713–1722. doi:10.1056/NEJMoa1706198

[11] Alton EWFW, Armstrong DK, Ashby D et al. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. Lancet Respir Med 2015; 3: 684–691. doi:10.1016/S2213-2600(15)00245-3

[12] Accurso FJ, Rowe SM, Clancy JP et al. Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. N Engl J Med 2010; 363: 1991–2003. doi:10.1056/NEJMoa0909825

[13] Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. N Engl J Med 2011; 365: 1663–1672. doi:10.1056/NEJMoa1105185

[14] Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW et al. Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. N Engl J Med 2015; 373: 220–231. doi:10.1056/NEJMoa1409547

[15] Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. N Engl J Med 2015; 372: 1887–1897. doi:10.1056/NEJMoa1414221

[16] Russell S, Bennett J, Wellman JA et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet 2017; 390: 849–860. doi:10.1016/S0140-6736(17)31868-8

[17] Xue K, Jolly JK, Barnard AR et al. Beneficial effects on vision in patients undergoing retinal gene therapy for choroideremia. Nat Med 2018; 10: 1507–1512. doi:10.1038/s41591-018-0185-5

[18] Dimopoulos IS, Hoang SC, Radziwon A et al. Two-Year Results After AAV2-Mediated Gene Therapy for Choroideremia: The Alberta Experience. Am J Ophthalmol 2018; 193: 130–142. doi:10.1016/j.ajo.2018.06.011

Bibliografie

DOI https://doi.org/10.1055/s-0043-115206
Pädiatrie up2date 2019; 14: 167–180

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

ISSN 1611-6445

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Punkte sammeln auf CME.thieme.de

Diese Fortbildungseinheit ist in der Regel 12 Monate online für die Teilnahme verfügbar. Den genauen Einsendeschluss finden Sie unter **https://eref.thieme.de/ZZX8XVA**. Sollten Sie Fragen zur Online-Teilnahme haben, finden Sie unter **https://cme.thieme.de/hilfe** eine ausführliche Anleitung. Wir wünschen viel Erfolg beim Beantworten der Fragen!

Unter **https://eref.thieme.de/ZZX8XVA** oder über den QR-Code kommen Sie direkt zur Startseite des Wissenstests.

VNR 2760512019156645572

Thieme CME · Fortbildungspunkte 3

Frage 1

Welche Aussage zur Gentherapie mittels Genschere CRISP/Cas9 ist korrekt?

A Mittels der CRISP/Cas9-Technologie können Gene nicht nur zielgerichtet ausgeschaltet werden, sondern es können auch Gensequenzen korrigiert werden.
B Der Einsatz von CRISP/Cas9 bei neurologischen Erkrankungen stellt bereits eine Standardtherapie dar.
C Bei der CRISP/Cas9-Technologie handelt es sich um eine unbedenkliche Therapie, das Risiko für unerwünschte Nebenwirkungen (sog. „off target effects“) ist vernachlässigbar klein.
D Sowohl mittels der CRISP/Cas9-Technologie wie der Gentherapie mittels viraler Vektoren können Veränderungen ganz gezielt an einer gewünschten Stelle im Genom herbeigeführt werden.
E Die Erfinderinnen des Genome Editing mittels CRISP/Cas9 erhielten 2018 den Nobelpreis für Medizin.

Frage 2

Welche der folgenden Aussagen im Hinblick auf den Einsatz von viralen Vektoren in der Gentherapie trifft zu?

A Der Vorteil der Adenoviren (AAV) ist, dass sie sich in die DNA der Zielzellen integrieren und so eine Langzeitwirkung ausüben können.
B Der Nachteil der Adenoviren ist, dass sie nur relativ kleine DNA-Segmente aufnehmen können.
C Der Vorteil von retroviralen Vektoren ist ihre Fähigkeit zur unabhängigen Replikation.
D Retroviren bergen ein Risiko für potenziell lebensgefährliche Nebenwirkungen, z. B. eine Immunantwort.
E Retrovirale Vektoren können sich an ganz spezifischen Stellen ins Patientengenom integrieren, was das Risiko auf einen ungezielten Einbau (z. B. oncogenic insertional mutagenesis) minimiert.

Frage 3

Welche der Aussagen im Hinblick auf die somatische Gentherapie und die Gentherapie der Keimbahn ist richtig?

A Die Gentherapie der Keimbahn ist in den meisten europäischen Ländern gesetzlich erlaubt.
B Die ethischen Bedenken gegenüber der Gentherapie sind bei der somatischen Gentherapie und derjenigen der Keimbahn vergleichbar.
C Bei der Gentherapie der Keimbahn kann die veränderte Erbanlage an potenzielle Nachkommen weitergegeben werden.
D Die somatische Gentherapie kann nur bei Krebserkrankungen in Erwägung gezogen werden.
E Bei der somatischen Gentherapie werden immer körpereigene Zellen, z. B. Immunzellen oder CD34+ Stammzellen, transferiert.

Frage 4

Welche Aussage trifft auf die Gentherapie der Muskeldystrophie Typ Duchenne (DMD) zu?

A Eine Gentherapie ist bei der DMD nicht möglich, da es sich beim DMD-Gen um ein sehr großes Gen handelt.
B Die Wahl der Therapie hängt bei der DMD davon ab, ob eine Nonsense-Mutation oder eine Deletion vorliegt.
C Eine medikamentöse Therapie mittels Amnioglykosid-Antibiotika (TRID, translational read-through inducing drug) ist die einzige etablierte Gentherapie bei der DMD.
D Die Antisense-Technologie mit dem synthetische Antisense-Oligonukleotid Nusinersen (Spinraza) ist mittlerweile in allen europäischen Ländern für die DMD zugelassen.
E Das sog. Exon-Skipping mittels Antisense-Oligonukleotiden (ASO) ist die einzige etablierte Gentherapie bei der DMD.

▸ **Weitere Fragen auf der folgenden Seite …**

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Punkte sammeln auf CME.thieme.de

Fortsetzung…

Frage 5

Welche Aussage zu gentherapeutischen Ansätzen ist korrekt?

A Das Überlesen (read-through) wird vor allem bei größeren Gendeletionen eingesetzt.

B Das sog. Genome Editing mittels CRISP/Cas9 kann nur dazu eingesetzt werden, neue Sequenzen ins menschliche Genom zu inserieren.

C Das Exon-Skipping mittels Antisense-Oligonukleotiden (ASO) kommt vor allem bei der zystischen Fibrose (CF) zum Einsatz.

D Bei der Antisense-Oligonukleotid-Therapie, die das alternative Spleißen beeinflusst, genügt i. d. R. eine einmalige Applikation der Substanz.

E Der Einsatz von Antisense-Oligonukleotiden (ASO) ist eine therapeutische Form des alternativen Spleißens, was zum sog. Exon-Skipping führen kann.

Frage 6

Welche Aussage zu den genetischen Grundlagen der spinalen Muskelatrophie (SMA) oder Muskeldystrophie Typ Duchenne (DMD) ist richtig?

A Bei der SMA handelt es sich um eine autosomal-dominante Erkrankung, Betroffene geben sie mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % an die Nachkommen weiter.

B Die DMD wird autosomal-rezessiv vererbt, es besteht ein Risiko von 25 % für betroffene Nachkommen. Mädchen und Jungen sind i. d. R. ähnlich betroffen.

C Die DMD wird vor allem durch Punktmutationen verursacht, intragenische Deletionen werden sehr selten beobachtet.

D Die SMA wird bei der Mehrzahl der Patienten durch Punktmutationen im SMN1-Gen verursacht.

E Die SMA wird sehr oft durch eine homozygote Deletion des SMN1-Gens verursacht.

Frage 7

Welche Aussage zur spinalen Muskelatrophie (SMA) trifft zu?

A Die Antisense-Technologie mit dem synthetischen Antisense-Oligonukleotid Nusinersen (Spinraza) ist mittlerweile in allen europäischen Ländern für die SMA zugelassen.

B Die Antisense-Therapie mittels Nusinersen erfolgt durch eine einmalige intrathekale Applikation.

C Die Antisense-Therapie mittels Nusinersen erfolgt durch eine einmalige intravenöse Applikation.

D Nusinersen ist in Europa nur für die leichteste Form der SMA (Typ III) zugelassen.

E Klinische Studien zum Einsatz von viralen Vektoren, die eine funktionelle SMN1-Genkopie erhalten, gibt es bei der SMA noch nicht.

Frage 8

Welche Aussage zur zystischen Fibrose (CF) trifft zu?

A Da es sich bei der CF um eine komplexe Multisystemerkrankung handelt, gibt es noch keine gentherapeutischen Ansätze für dieses Krankheitsbild.

B Bisher sind sog. CFTR-Modulatoren erst für die Behandlung von Patienten mit spezifischen Mutationen im CFTR-Gen zugelassen (G551D und F508del).

C Eine genetische Testung mit Bestimmung des Genotyps hat bei einem von CF betroffenen Kind nur Wertigkeit im Hinblick auf das Wiederholungsrisiko bei zukünftigen Schwangerschaften der Eltern.

D Die Inhalationstherapie mit Liposomen, die eine funktionstüchtige Kopie des CFTR-Gens enthalten, führt zu einer anhaltenden und deutlichen Verbesserung der Lungenfunktion bei CF-Patienten und stellt mittlerweile die Standardtherapie dar.

E Obwohl es sich beim CFTR-Gen um ein großes Gen handelt, ist die Anzahl der ursächlichen Mutationen überschaubar (< 50), was die Entwicklung einer Gentherapie erleichtert.

▸ **Weitere Fragen auf der folgenden Seite …**

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Punkte sammeln auf CME.thieme.de

Fortsetzung...

Frage 9

Welche der folgenden Aussagen zur Retinitis pigmentosa (RP) ist korrekt?

A Für die RP wurde eine Gentherapie mit einem viralen Vektor etabliert, die bei allen Patienten mit einer Retinadystrophie eingesetzt werden kann.

B Die RP ist das 1. Krankheitsbild, bei dem klinische Studien mit der CRISPR/Cas9-Technologie veröffentlicht wurden.

C Bei der RP handelt es sich um eine genetisch sehr heterogene Krankheitsgruppe, was sich erschwerend auf die Entwicklung einer Gentherapie für eine möglichst große Patientenkohorte auswirkt.

D Der Genvektor Luxturna (Voretigen neparvovec) wurde spezifisch für das Krankheitsbild der Choroideremie entwickelt.

E Bei der RP sind nur autosomal-rezessive Erbgänge bekannt.

Frage 10

Welche Aussage im Hinblick auf die ethischen Bedenken beim Einsatz der Gentherapie trifft *nicht* zu?

A Es handelt sich i. d. R. um eine sehr kostenintensive Therapie, die durch das öffentliche Gesundheitssystem getragen werden muss.

B Die Therapie bzw. Heilung von genetischen Erkrankungen könnte zur Diskriminierung von Menschen mit einer Behinderung führen.

C Mittels Einsatz der Gentherapie in der Keimbahn könnten sog. „Designer-Babys“ geschaffen werden.

D Gentherapien am Menschen unterliegen in Europa keiner Bewilligungspflicht.

E Es sollte angestrebt werden, dass die wissenschaftliche Gemeinschaft international bindende Leitlinien zu genetischen Manipulationen am Embryo erstellt.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.