

## Gentherapien bei Lungenerkrankungen kurz vor dem Ziel

**Bei vielen genetischen Erkrankungen wie beispielsweise Mukoviszidose oder  $\beta$ -Thalassämie besteht die einzige Chance auf Heilung in einer Gentherapie, das heißt dem Ersatz oder der Korrektur des fehlerhaften Gens. Geforscht wird auf diesem Gebiet bereits seit Jahren mit Hochdruck. Bislang gibt es jedoch nur sehr wenige erfolgreiche Therapien fehlerhafter Gene beim Menschen. Dr. Michael Kormann, Juniorprofessor an der Kinderklinik der Universität Tübingen, beschäftigt sich mit seiner Arbeitsgruppe mit „heilenden Genen“: Die Wissenschaftler arbeiten an Techniken zur Gentherapie und -korrektur bei schweren, vererbten Lungenerkrankungen. Sie konnten damit Mäuse mit Surfactant-Protein-B-Defizienz mit Hilfe von modifizierten Ribonukleinsäuren bereits lebenserhaltend therapieren.**

Gentherapie und Genkorrektur sind hochmoderne neue Therapiemöglichkeiten für Patienten mit schweren, vererbten Erkrankungen. Hierbei wird ein krankes Gen durch die gesunde Variante ersetzt oder ein schwaches Gen in seiner Produktionskette von Proteinen unterstützt. Mit solchen genetischen Techniken beschäftigen sich Dr. Michael Kormann, Biologe und Juniorprofessor für translationale Genomik und Gentherapie an der Kinderklinik der Universität Tübingen, und seine Arbeitsgruppe. Die Wissenschaftler erarbeiten neue Methoden zur Therapie und Korrektur von Genen vor allem bei Mukoviszidose oder bestimmten Formen von Asthma, aber auch bei Erkrankungen des Blutes wie der  $\beta$ -Thalassämie.

### Gensupplementation mit modifizierter Messenger-RNA

Für ihre Forschungsarbeiten verwenden die Tübinger Genetiker unter anderem Mausmodelle mit einer Surfactant-Protein-B-Defizienz, so genannte SP-B-Mäuse. Diese seltene, angeborene und sehr schwere Erkrankung des Atmungssystems führt beim Menschen dazu, dass Neugeborene bislang nur wenige Monate überleben können. Die SP-B-Mäuse wurden an der Tübinger Kinderklinik einer Gensupplementationstherapie unterzogen, das heißt, ihnen wurde das fehlende Genprodukt verabreicht.

Dazu sprühten die Wissenschaftler den Tieren mRNA mit der Sequenz für SP-B in die Lunge, sodass daraufhin am Proteinsyntheseapparat der erkrankten Lungenzellen korrektes SP-B-Protein gebildet wurde. Die Defizienz konnte damit ausgeglichen werden. Die mRNA wurde zuvor noch mit speziellen Modifikationen versehen: „Das machen wir zum einen, da die entsprechende natürliche Ribonukleinsäure in vivo, also im Körper, sehr instabil ist, und zum anderen sehr starke Immunantworten hervorruft“, erklärt Michael Kormann. „Deshalb haben wir die mRNA in einer Art „Mimikry“ so modifiziert, dass diese neuartige mRNA keine Immunreaktionen und damit



Juniorprofessor Dr. Michael Kormann erforscht an der Tübinger Kinderklinik Techniken zur Gentherapie und Genkorrektur bei schweren, vererbaren Lungenerkrankungen.

© Kormann

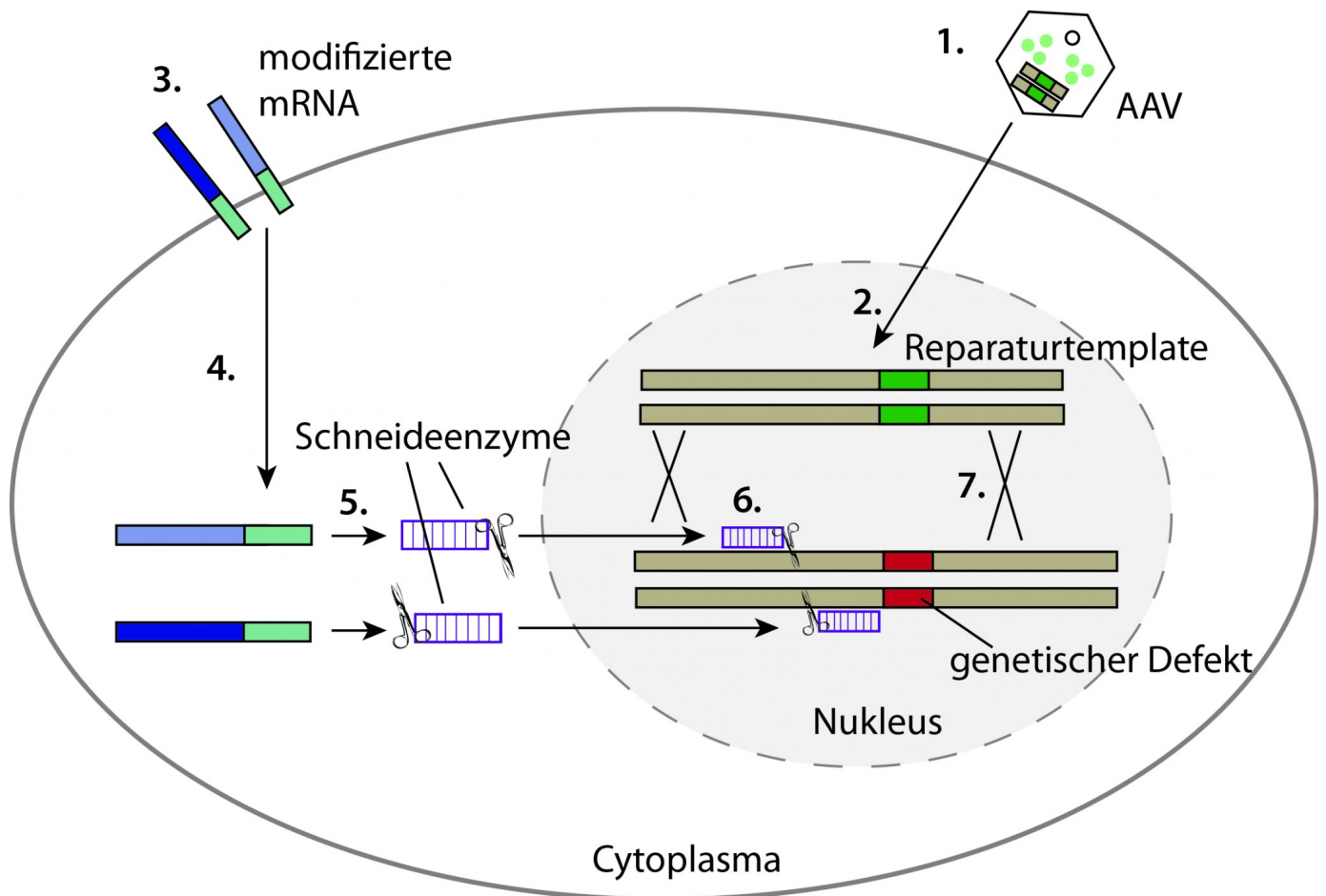
verbundenen Nebenwirkungen hervorrufen.“

Die speziellen Nukleinsäuren zur Verwendung bei Gentherapien hat Kormann als Postdoktorand gemeinsam mit PD Dr. Carsten Rudolph an der Universität München entwickelt. Das Patent hierfür hat der Biologe mittlerweile an die Münchner Biotechnologiefirma ethris GmbH abgetreten. Die mRNA für Forschungszwecke wird aber weiterhin selbst im Labor in Tübingen hergestellt und dort auch weiterentwickelt.

## Ausweitung auf andere Erkrankungen und den Menschen

Die Gensupplementationstherapie war bei den SP-B-Mäusen sehr erfolgreich: Mit Hilfe der modifizierten mRNA gelang es Kormann und seinen Mitarbeitern bereits im Jahr 2010, die Mäuse lebenserhaltend zu therapieren. „Hierfür braucht man nur geringe Mengen an Nukleinsäure“, so Kormann. „Das liegt bei Mäusen im Mikrogrammbereich, beim Menschen rechnet man mit Mengen im Grammbereich.“ Allerdings wurde die Therapie bislang noch nicht auf den Menschen übertragen.

Seit dem Biologen vor drei Jahren die Juniorprofessur übertragen wurde, arbeitet Kormann daran, solche Techniken zunächst auch auf andere Erkrankungen wie beispielsweise Asthma zu übertragen, um auf diesem Gebiet individualisierte Therapien zu fördern. Für die Behandlung dieser heutzutage häufigsten Lungenerkrankung beim Menschen verwenden die Wissenschaftler Asthma-Mausmodelle, und auch diese konnten bereits erfolgreich mit modifizierter mRNA sowohl therapeutisch als auch präventiv behandelt werden.



Genkorrektur durch Nukleasen, die über nukleotid-modifizierte mRNA kodiert werden. Ein lungengängiger AAV-Vektor (1.) transportiert das Reparaturtemplate in die Zelle und den Kern (2.). Danach wird modifizierte mRNA, die die spezifischen Nukleasen wie Zinkfinger- oder TAL-Effektor-Nukleasen kodiert (3.), in das Zytoplasma eingeschleust (4.), wo es sofort in das Nukleasen-Protein-Paar umgeschrieben wird (5.). Das Nukleasen-Paar wird in den Kern transportiert, wo es an die Zielregion (nahe des Gendefektes) bindet und einen Doppelstrangbruch (DSB) erzeugt (6.). Der DSB wiederum stimuliert Reparaturmechanismen der Zelle, inklusive homologer Rekombination, im Zuge welcher der genetische Defekt mit dem korrekten DNA-Code, enthalten im Reparaturtemplate, ausgetauscht wird (7.).

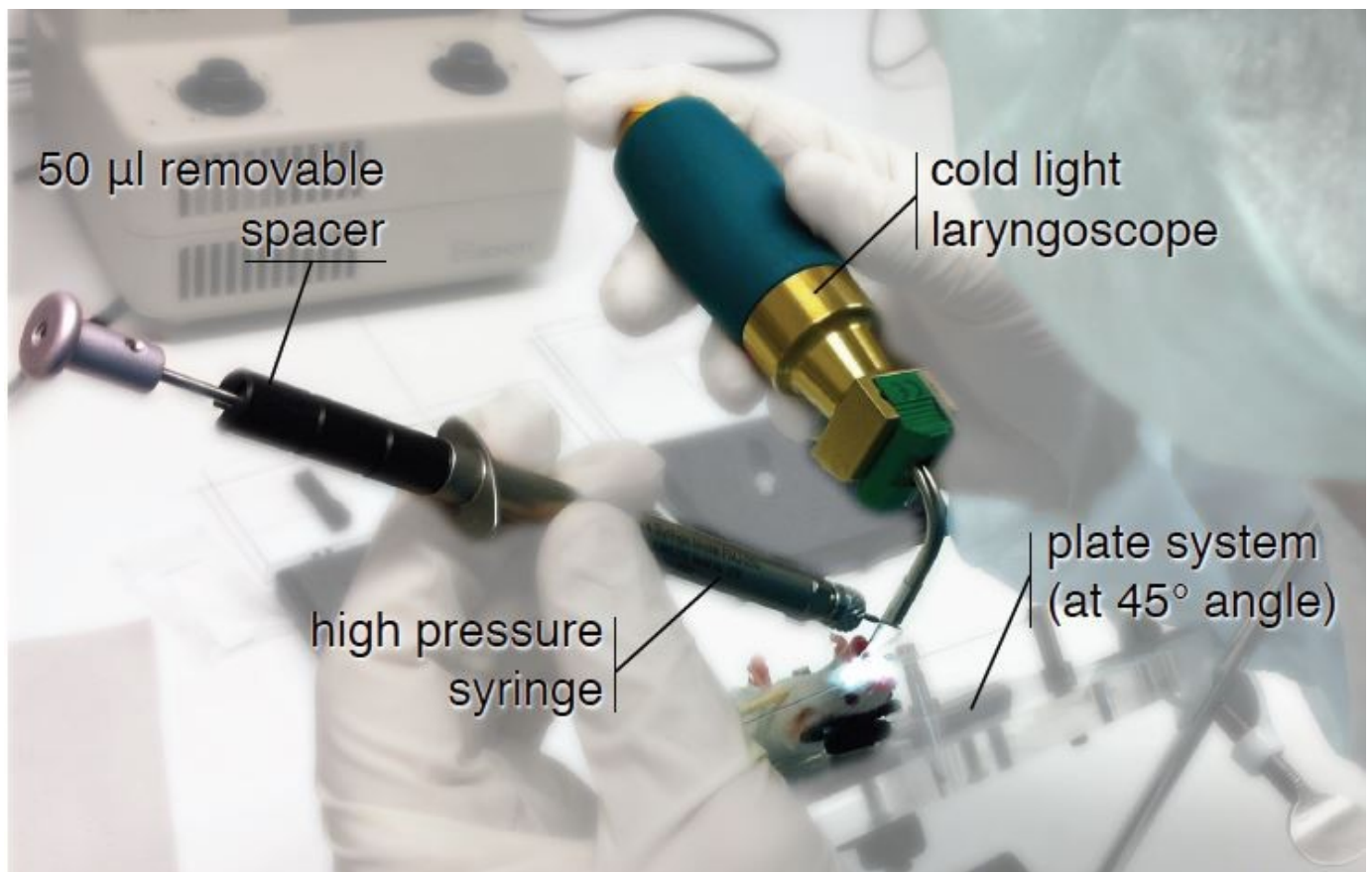
© Kormann

Nächstes großes Ziel der Tübinger Biologen ist nun die Übertragung der Supplementationstherapie auf den Menschen: Sobald die entsprechenden Techniken etabliert sind, wird eine maßgeschneiderte Therapie idealerweise so aussehen, dass man für jede Erkrankung zunächst einmal eine umfassende genetische Analytik durchführt und feststellt, welche Gene überhaupt betroffen sind. Beim Asthma sind - neben der Umwelt - sehr viele Gene am Ausbruch und dem Verlauf der Krankheit beteiligt. Deren Varianten werden zunächst identifiziert, damit die fehlregulierten Gene dann entsprechend gezielt therapiert werden können.

### Genkorrektur außerhalb des Körpers

Weiterhin forscht Kormanns Arbeitsgruppe aber auch daran, fehlerhafte Gene nicht nur per Supplementationstherapie zu unterstützen, sondern solche Sequenzen auch gezielt zu korrigieren. Eine solche Ex-vivo-Therapie erhalten Patienten mit  $\beta$ -Thalassämie – eine gerade im arabischen Raum häufige Erkrankung der roten Blutkörperchen. Den Betroffenen werden Knochenmarksstammzellen entnommen. Anschließend versuchen die Tübinger Wissenschaftler, diese außerhalb des Körpers zu korrigieren. Wenn dieser Schritt klappt, werden die Zellen zunächst in immunkompromittierte Mäuse injiziert, um das Anwachsen der gesunden Zellen im Körper zu beobachten.

## In-vivo-Genkorrektur mit Nukleasen



Intratracheale Injektion. Eine Hochdruckspritze (high pressure syringe) mit Borosilikat-Gläseinsatz, Teflonkolben und 50- $\mu$ l-Separationsringen (removable spacer) wird unter Nutzung eines Kaltlicht-Laryngoskops (cold light laryngoscope) in die Mastrachea eingeführt. Während der Prozedur ist die Maus narkotisiert und an den Frontzähnen auf einer Intubationsplattform im 45°-Winkel fixiert (plate system at 45° angle).

© Kormann

Eine andere Strategie ist die In-vivo-Genkorrektur, bei der das fehlerhafte Gen direkt im Körper des Patienten korrigiert wird. Hierzu erzeugen die Biologen Brüche des DNA-Doppelstrangs in der Nähe des Gendefekts. Diese werden von speziellen Enzymen ausgeführt - Nukleasen, die Sequenzen ganz spezifisch erkennen und dort die DNA schneiden können. Am Schnitt kann dann die speziell hergestellte, korrekte Nukleinsäure über Konstrukte aus Adeno-assoziierten viralen Vektoren - sogenannte AAV - defekte DNA austauschen: Das Gen ist somit korrigiert. Der Vorteil hierbei ist es, dass das Gen unter der gleichen, ursprünglichen Kontrollinstanz - dem Promotor - verbleibt.

Zunächst wurden für diese Verfahren virale Vektoren verwendet. „Diese Bestandteile aus Viren haben jedoch den Nachteil, dass sie oft noch Jahre nach der Therapie aktiv sind“, so Kormann.

Aktuell setzen die Tübinger Forscher deshalb spezielle mRNA (nec-mRNA, nuclease encoded chemically modified-mRNA) ein, die von den Lungenzellen gut aufgenommen wird und weniger Nebenwirkungen hat, weil sie im Gegensatz zum viralen System nicht ins Genom integriert wird. Der Abbau der mRNA ist über Modifikationen sehr gut steuerbar, sie produziert schnell und effizient die nötigen Nukleasen und dringt sowohl in sich teilende als auch sich nicht-teilende Zellen wirkungsvoll ein“, erklärt Kormann.

### Genkorrektur per Lungenspray

Eine solche Genkorrektur nahmen die Tübinger Wissenschaftler bei SP-B-Mäusen vor. Hier konnten

die SP-B-Zellen bereits so erfolgreich korrigiert werden, dass die Tiere vier- bis fünffach länger überlebten: Den Tieren wurde die Medikamentenmischung aus nec-mRNA und AAV als Spray intratracheal in die Lunge verabreicht. Nun sind die Wissenschaftler dabei, die Technik weiter zu verfeinern: Beispielsweise soll versucht werden, einzelsträngige DNA anstatt AAVs zu verwenden. Das Patent auf dieses System ist bereits beantragt.

Im nächsten Schritt soll die Genkorrektur beim Menschen getestet werden. Geplant ist es, dazu in den nächsten zwei Jahren humanisierte Mausmodelle zu erzeugen und die Schneidewerkzeuge für die Nukleinsäure - das Nukleasesystem - entsprechend zu gestalten. Die Tests bei Patienten werden dann als Heilversuche durchgeführt. Sind diese erfolgreich, können klinische Studien mit Mukoviszidose-Patienten folgen.

---

## Fachbeitrag

15.09.2014

pbe

BioRegio STERN

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

## Weitere Informationen

Jun.-Prof. Dr. Michael Kormann

AG Translationale Genomik und Gentherapie in der Pädiatrie

Lothar-Meyer-Bau

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin (Abt. I)

Wilhelmstr. 56 (Labor: Wilhelmstr. 27)

72074 Tübingen

Tel.: 07071/29-76776

E-Mail: michael.kormann(at)med.uni-tuebingen.de

▶ [Kormann Lab, Universitätsklinik Tübingen](#)

▶ [Index: Asthma](#)

---

## Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Die personalisierte Medizin kommt aus den Startblöcken



Zell- und Gentherapien: Aus der Forschung in die Klinik