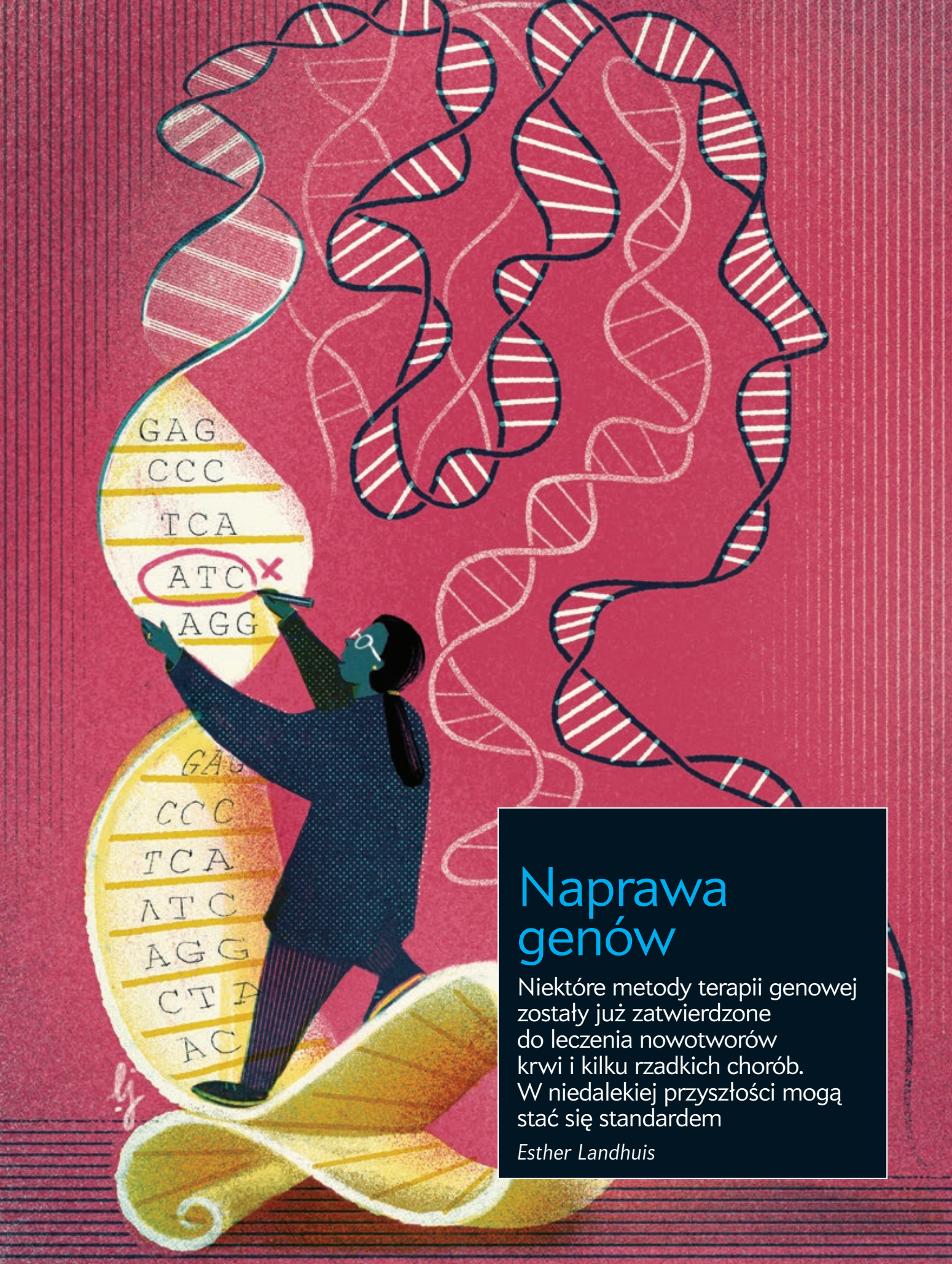

Naprawa genów

Niektóre metody terapii genowej zostały już zatwierdzone do leczenia nowotworów krwi i kilku rzadkich chorób. W niedalekiej przyszłości mogą stać się standardem

Esther Landhuis

PO TRZECH DEKADACH OD PIERWSZYCH, nie zawsze udanych prób klinicznych, terapia genowa staje się opcją leczenia niewielkiej, ale rosnącej liczby chorób. Chociaż w latach 70. koncepcja ta budziła wiele wątpliwości zarówno natury naukowej, jak i etycznej, jej podstawowe założenie – zastępowanie lub naprawa pojedynczego genu wywołującego chorobę – okazało się słuszne. Naukowcy opracowali różne techniki korygowania lub wpływania na sposób funkcjonowania ludzkich genów i wykorzystali je do stworzenia metod terapii kilku chorób krwi, a także chorób zwyrodnieniowych oczu i mięśni. W ciągu ostatnich pięciu lat w Stanach Zjednoczonych zatwierdzono ponad pół tuzina takich terapii, a wiele innych, ukierunkowanych na leczenie różnych schorzeń, jest w trakcie badań klinicznych.

Istniejące terapie genowe opierają się na dwóch podstawowych technikach. W powszechniejszym podejściu pobiera się od pacjenta krew i przeprogramowuje określone komórki w laboratorium, a następnie ponownie wstrzykuje je do organizmu. Druga metoda polega na przeprowadzaniu terapii genowej bezpośrednio w organizmie, zwykle w łatwiej dostępnych miejscach, takich jak oko. Obecnie dyscyplina ta zaczyna dojrzewać i wykraczać poza początkowe taktyki. Nieustanne postępy sprawiły, że wprowadzanie genów stało się bezpieczniejsze i skuteczniejsze, co pozwoliło na przeprowadzenie dziesiątek badań z udziałem ludzi w obrębie kolejnych tkanek, takich jak wątroba i serce. Niektóre próby wychodzą poza pierwotną definicję terapii genowej – zamiast zastępować lub wprowadzać cały gen wykorzystuje się w ich przypadku narzędzia molekularne, które naprawiają błędy w genach.

Jednak pomimo ostatnich osiągnięć terapia genowa napotyka wiele przeszkód na drodze do szerszego zastosowania klinicznego – główną z nich jest trudność oddziaływania na określone tkanki bez wywoływania odpowiedzi immunologicznej. Szersze, długoterminowe wyzwania obejmują poprawę wydajności oraz zmniejszenie kosztów: cena leczenia metodami terapii genowej w USA wynosi dziś średnio ponad 400 tys. dolarów za dawkę. Mimo to, wobec tak dużego potencjału i ogromnej liczby pacjentów potrzebujących nowych rozwiązań, terapia genowa będzie nadal zyskiwać zarówno na znaczeniu, jak i na skuteczności.

PIERWSZE SUKCESY I PORAŻKI

KONCEPCJA leżąca u podstaw pierwszych metod terapii genowej, z których część jest nadal wykorzystywana, jest dość prosta – gdy choroba wynika z braku lub dysfunkcji genu, należy dostarczyć funkcjonalną jego kopię do komórek dotkniętych chorobą. To, jak mówi Prashant Mali, bioinżynier z University of California w San Diego, była „definicja terapii genowej w wersji 1.0".

Jedna z pierwszych prób datuje się na rok 1990, kiedy to naukowcy z National Institutes of Health leczyli dwie dziewczynki z ciężkim niedoborem odporności spowodowanym brakiem enzymu. W próbie tej, podobnie jak w wielu obecnych, geny terapeutyczne, potrzebne do produkcji enzymu, wprowadzono do komórek docelowych we wnętrzu zmodyfikowanych wirusów, z których usunięto duże fragmenty ich genomu. Uniemożliwiono w ten sposób replikację wirusa, robiąc jednocześnie miejsce na ludzkie geny. W istocie, mówi Charles Gersbach, dyrektor Center for Advanced Genomic Technologies na Duke University, w podejściu tym wykorzystano zdolność wirusa do infekowania ludzkich komórek z jednoczesnym „użyciem obudowy wirusa jako konia trojańskiego w celu dostarczenia terapeutycznego ładunku genowego".

Zespół NIH pobrał od dziewczynek trochę krwi, aby wyizolować białe krwinki, które następnie zostały „zainfekowane" wirusami przenoszącymi gen kodujący brakujący enzym. Skorygowane komórki wstrzykiwano do organizmów pacjentek. W ciągu 18–24 miesięcy każda z nich otrzymała około tuzina wlewów. Terapia nie doprowadziła do wyleczenia, ale złagodziła objawy choroby i udowodniła możliwość bezpiecznego wykorzystywania takiego podejścia, co samo w sobie było „kamieniem milowym", mówi Gersbach.

Szybko pojawiły się nowe próby zastosowania terapii genowej, jednak w 1999 roku zmarł 18-letni Jesse Gelsinger – eksperymentalna terapia genowa opracowana w celu leczenia metabolicznej choroby wątroby, na którą cierpiał, spowodowała przesterowanie układu odpornościowego. Kilka lat później, w 2003 roku, badacze donieśli, że u kilku osób leczonych z powodu niedoboru odporności rozwinęła się białaczka, co było niefortunnym skutkiem losowego umieszczenia przez wirus swojego ładunku w regionach genomu sprzyjających rozwojowi nowotworów.

Naukowcy zaczęli mieć wątpliwości: „Zaraz, zaraz, może nie rozumiemy tego tak dobrze, jak nam się wydawało", mówi Gersbach. Terapia genowa utknęła w martwym punkcie na ponad pół dekady. Badania kliniczne zostały wstrzymane, a naukowcy skupili całą swoją uwagę na pracy laboratoryjnej – badając i udoskonalając wektory wirusowe, usuwając dodatkowe geny i traktując je różnymi związkami chemicznymi, aby uczynić je bezpieczniejszymi i skuteczniejszymi w docieraniu do docelowych komórek.

Powrót do podstaw zapewnił czas i przestrzeń na lepsze zrozumienie tego, co się sprawdziło, a co nie. Dzięki tym pracom obecnie w wielu terapiach genowych wykorzystuje się wektory w postaci wirusów związanych z adenowirusami (AAV) lub retrowirusami, z których każdy ma swoje zalety i wady, a także ulepszone wersje wektora adenowirusowego z pierwszych prób. Ładunek genetyczny dostarczany przez większość wektorów AAV pozostaje w komórce jako oddzielne, swobodnie unoszące się elementy, nie integruje się na stałe z genomem komórki gospodarza. Dzięki temu prawdopodobieństwo wywołania raka

jest znacznie mniejsze niż w przypadku wcześniejszych wektorów, jednak leczenie może się okazać mniej trwałe, co zależy od tego, jak długo geny terapeutyczne pozostają w komórce gospodarza. Wirusy są tak małe, że mogą zakażać wiele różnych komórek i skutecznie rozprzestrzeniać się w tkankach. Retrowirusy dają inne korzyści. Mogą pomieścić w sobie większe i bardziej złożone geny w porównaniu z wektorami AAV. Niektóre z nich, takie jak lentiwirusy, mają ponadto tendencję do wstawiania się do regionów kodujących, czyli tych części genomu, które są tłumaczone na białka. Minimalizuje to ryzyko zachorowania na raka, a jednocześnie zapewnia długotrwalsze korzyści niż w przypadku wektorów AAV.

POWRÓT

TERAPIA GENOWA na nowo wkroczyła do gry na początku drugiego dziesięciolecia XXI wieku, kiedy to badacze z Pensylwanii i Maryland niezależnie od siebie przedstawili wyniki badań nad leczeniem białaczki i chłoniaka. Eksperymentalne metody zapewniały trening i turbodoładowanie układu odpornościowego, dzięki czemu mógł on wykrywać i niszczyć komórki rakowe. W tym celu naukowcy musieli stworzyć geny, które pozwoliłyby komórkom rozpoznawać i zabijać nowotwory. Umieścili te geny w wektorach retrowirusowych i dostarczyli je do limfocytów T – komórek odpornościowych wyizolowanych z krwi badanych. Kiedy ponownie wstrzykiwano pacjentom zmodyfikowane limfocyty T, doprowadzały one do remisji nowotworu. „Znów wszystko wyglądało bardzo obiecująco" – mówi Cynthia Dunbar, lekarka i badaczka, która pracuje nad metodami leczenia komórkami krwi w National Heart, Lung, and Blood Institute.

Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (U.S. Food and Drug Administration) zatwierdziła od tego czasu kilka takich metod terapii limfocytami T, znanymi jako limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR), do stosowania w leczeniu niektórych chłoniaków i białaczek, a także szpiczaka mnogiego. Ponieważ terapie z wykorzystaniem limfocytów CAR T nie są ukierunkowane na dysfunkcję genów *per se*, ale raczej wyposażają limfocyty T w zdolność polowania na nowotwory, niektórzy dyskutują, czy w ogóle można je zakwalifikować jako terapie genowe. Jednak z metodologicznego punktu widzenia CAR T nasila funkcje komórek poprzez wykorzystanie wektorów wirusowych do dostarczania genów – podobnie jak w przypadku najwcześniejszych prób. „Granice tego, co określamy jako »terapię genową«, są trochę rozmyte" – mówi Dunbar.

Kolejną techniką genetyczną z obrzeży głównego nurtu jest tzw. terapia oligonukleotydowa. Zamiast korygować istniejące geny, wykorzystuje się w niej krótkie sekwencje kwasów nukleinowych, czyli oligonukleotydy, aby wpłynąć na sposób, w jaki komórki na podstawie genów produkują białka. Jeden z takich leków, nusinersen (Spinraza), wiąże się z cząsteczkami RNA pośredniczącego, aby nakłonić komórki do wytwarzania większej ilości białka, którego brakuje u osób z rdzeniowym zanikiem mięśni.

TERAPIA GENOWA 2.0

W CIĄGU OSTATNIEJ DEKADY postęp naukowy zapoczątkował nową erę, a definicja terapii genowej wciąż ewoluuje, mówi Mali. W najnowszych metodach rezygnuje się z dostarczania zdrowych genów, celem jest natomiast precyzyjna naprawa genu wewnątrz komórki. Jeśli w genomie jest mutacja lub inny błąd, zdaniem Mali, pytanie teraz brzmi: „Czy możemy dostać się do środka i to naprawić?"

Innowację tę napędza wyróżnione Nagrodą Nobla odkrycie CRISPR-Cas9, systemu obrony immunologicznej bakterii, który wykrywa specyficzne sekwencje DNA inwazyjnych wirusów i kieruje pracą enzymu, prowadząc do pocięcia i zniszczenia genomu wirusa. System ten ma zastosowania daleko wykraczające poza bakterie – naukowcy odkryli, że mogą go również wykorzystać do precyzyjnego rozcinania genomu ssaków. W ciągu zaledwie siedmiu lat technika ta przeszła od eksperymentów laboratoryjnych *in vitro* na komórkach ssaków do prób z udziałem ludzi.

„Ładunkiem" w terapiach opartych na CRISPR nie jest fragment DNA, ale sam system edytowania genów, wprowadzony do komórek przez wirusa, w nanocząstce lub samodzielnie jako kompleks RNA z białkiem. Terapie te mogą być stosowane *ex vivo* (poza organizmem) w celu zmiany komórek w laboratorium i ponownego wprowadzenia ich do organizmu pacjenta albo poprzez wysyłanie narzędzi do edytowania genów bezpośrednio do dotkniętych tkanek, gdzie zmieniają one genomy komórek.

Nad takimi terapiami opartymi na CRISPR pracuje obecnie kilkadziesiąt firm. W jednym z badań klinicznych we wczesnej fazie zastosowano metodę edycji genów *ex vivo* w leczeniu osób z niedokrwistością sierpowatokrwinkową lub pokrewnym zaburzeniem krwi zwanym talasemią beta. Badacze ci przedstawili wyniki dla swoich pierwszych dwóch pacjentów w styczniu 2021 roku. W czerwcu inna firma poinformowała o pierwszej w historii udanej próbie bezpośredniej edycji genów, w której wykorzystano nanocząstki do dostarczenia komponentów CRISPR-Cas9 do komórek wątroby i wyłączenia genu odpowiedzialnego za rzadką chorobę zwaną amyloidozą transtyretynową.

W najnowszych metodach rezygnuje się z dostarczania zdrowych genów, celem staje się precyzyjna naprawa genu wewnątrz komórki.

Pojawiające się metody pozwalają na większą precyzję i subtelniejsze działania – na przykład wymianę pojedynczych nukleotydów lub tymczasowe osłabienie aktywności genu bez zmiany jego DNA – co daje badaczom możliwość stawiania sobie coraz ambitniejszych celów. Pracują oni nad metodami leczenia chorób neurologicznych, zaburzeń autoimmunologicznych i innych nowotworów. W dłuższej perspektywie chcą wyjść poza zaburzenia wywoływane przez pojedyncze geny i zacząć leczyć schorzenia spowodowane interakcją wielu genów, takich jak choroby układu krążenia i przewlekły ból. Dzięki terapiom genowym, które skutecznie łagodzą niektóre choroby, naukowcy, klinicyści i pacjenci mają nadzieję na utrzymanie tempa rozwoju z ostatniej dekady i sprawienie, że terapia genowa stanie sie kamieniem węgielnym współczesnej medycyny.

Esther Landhuis jest niezależną dziennikarką zajmującą się nauką i zdrowiem, mieszkającą w San Francisco. Jej artykuły o osiągnięciach z dziedziny nauk przyrodniczych ukazywały się również w „Nature".

Artykuły opracowane
niezależnie przez redaktorów
„Scientific American”
przy wsparciu firmy

RAPORT SPECJALNY

SCIENTIFIC AMERICAN

nature

ScientificAmerican.com/InnovationsIn/gene-therapy