

# Historie sukcesu

**Terapia genowa zaczyna w pełni realizować swój potencjał. Cztery metody leczenia dają wgląd w to, co nas czeka w przyszłości**

*Jim Daley*

Po licznych niepowodzeniach na przełomie wieków, terapia genowa umożliwiła dziś leczenie różnych chorób, od zaburzeń nerwowo-mięśniowych, przez nowotwory, po ślepotę. Sukces ten jest jednak często warunkowy. Niektóre z terapii okazały się skuteczne w łagodzeniu objawów, ale są drogie i trudno dostępne – Nawet jeśli ludzie wiedzą, że istnieje sposób leczenia ich choroby, i nawet jeśli mogą sobie na to leczenie pozwolić lub ich firma ubezpieczeniowa pokryje koszty – które mogą wynosić od 400 tys. do 2 mln dolarów – nie zawsze są w stanie dotrzeć do nielicznych ośrodków akademickich, które to oferują. Inne terapie łagodzą objawy, ale nie eliminują przyczyny.

„Całkowite wyleczenie pacjentów będzie oczywiście ogromnym sukcesem, ale w wielu sytuacjach nie jest to [jeszcze] możliwe” – mówi Julie Crudele, neurołożka i badaczka terapii genowej z University of Washington. Dodaje jednak, że nawet niewielkie osiągnięcia torują drogę ciągłemu postępowi i wskazuje na badania prowadzone z udziałem jej pacjentów cierpiących na dystrofię mięśniową Duchenne’a: „Z większości badań klinicznych wynosimy ważne lekcje”.

Dzięki tej nowej wiedzy i wytrwałym badaniom naukowcy zajmujący się terapią genową mogą obecnie pochwalić się wydłużającą się listą sprawdzonych terapii genowych. Oto cztery najbardziej obiecujące.

## **ZAMIANA GENÓW, ZAPOBIEGAJĄCA UTRACIE WZROKU**

Niektóre dzieci rodzą się z poważnym pogorszeniem wzroku spowodowanym przez choroby siatkówki, które kiedyś prowadziły nieuchronnie do całkowitej ślepoty. Dziś mogą skorzystać z terapii genowej stworzonej przez małżeństwo Jean Bennett i Alberta Maguire, okulistów na University of Pennsylvania.

Kiedy w 1991 roku para ta rozpoczęła badania nad chorobami siatkówki, żaden z genów, o których obecnie wiadomo, że powodują utratę wzroku i ślepotę, nie został

jeszcze zidentyfikowany. W 1993 roku badacze rozpoznali jeden potencjalny gen docelowy – RPE65. Siedem lat później Bennett i Maguire przetestowali terapię ukierunkowaną na ten gen u trzech psów z poważną utratą wzroku – wszystkim trzem przywrócono widzenie.

U ludzi chorobą dziedziczną, która najlepiej odpowiada utracie wzroku u psów, jest wrodzona amauroza Lebera (Leber congenital amaurosis, LCA). LCA uniemożliwia siatkówce, warstwie komórek wrażliwych na światło w tylnej części oka, prawidłowe reagowanie lub wysyłanie sygnałów do mózgu, gdy uderza w nią foton. Choroba ta może powodować niekontrolowane drżenie oka (oczołpąs), uniemożliwia źrenicom reagowanie na światło i zazwyczaj prowadzi do całkowitej ślepoty przed ukończeniem 40 roku życia. Naukowcy powiązali tę chorobę z mutacjami lub delecjami w którymkolwiek z 27 genów związanych z rozwojem i funkcjonowaniem siatkówki. Do czasu powstania terapii genowej nie było na nią lekarstwa.

Mutacje w RPE65 są tylko jedną z przyczyn dziedzicznego zaniku siatkówki, ale była to przyczyna, którą Bennett i Maguire mogli się zająć. Naukowcy użyli nieszkodliwego wirusa związanego z adenowirusami (AAV), który zaprogramowali tak, by znajdował komórki siatkówki i wstawiał zdrową wersję genu, a następnie wstrzyknęli go do oka pacjenta bezpośrednio pod siatkówkę. W 2017 roku, po serii badań klinicznych, Agencja ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FD) zatwierdziła neparwówek woretygeny (sprzedawany pod nazwą Luxturna) do leczenia wszelkich dziedzicznych dystrofii siatkówki spowodowanych zmutowanym genem RPE65, w tym LCA typu 2 i zwyrodnienia barwnikowego siatkówki – innej wrodzonej choroby oczu, która wpływa na fotoreceptory w siatkówce. Luxturna była pierwszą zatwierdzoną przez FDA terapią genową *in vivo*, która jest dostarczana do komórek docelowych wewnątrz organizmu (poprzednio zatwierdzone terapie *ex vivo* dostarczają materiał genetyczny do komórek docelowych w próbkach pobranych z organizmu, które są następnie ponownie do niego wstrzykiwane).

Spark Therapeutics, firma produkująca Luxturnę, szacuje, że do leczenia może kwalifikować się około 6 tys. osób na całym świecie, w tym od 1 tys. do 2 tys. w Stanach Zjednoczonych – tak mało, że Luxturna otrzymała status „leku sierocego”; oznaczenie to jest wykorzystywane przez FDA do zachęcania do rozwoju terapii przeciwko rzadkim chorobom. To jednak nie wystarczy-

ło, aby obniżyć koszty. Terapia jest wyceniana na około 425 tys. dolarów za jedną iniekcję, czyli niemal milion dolarów za dwoje oczu. Pomimo kosztów, Maguire mówi: „Nie spotkałem jeszcze nikogo w Stanach Zjednoczonych, kto nie mógłby uzyskać dostępu do tego leczenia z powodów finansowych”.

U osób leczonych dochodzi do istotnej poprawy: u pacjentów, którzy wcześniej nie widzieli ostro, dochodziło do przywrócenia wzroku, często w bardzo krótkim czasie. Niektórzy zgłaszali, że po zastrzykach po raz pierwszy zobaczyli gwiazdy.

Chociaż nie jest jasne, jak długo utrzymają się efekty, dane uzupełniające opublikowane w 2017 roku pokazały, że u wszystkich 20 pacjentów leczonych preparatem Luxturna w badaniu fazy 3 zachowała się poprawa widzenia trzy lata później. Bennett twierdzi, że pięcioletnia obserwacja 29 pacjentów, która jest obecnie w trakcie recenzji, dała podobnie pomyślne wyniki. „Ci ludzie mogą teraz robić rzeczy, o których nie mogli nawet marzyć, są bardziej niezależni i cieszą się życiem”.

#### UCZENIE UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO, JAK MA ZWALCZAĆ NOWOTWORY

Terapia genowa poczyniła postępy również w walce z rakiem. Podejście znane jako terapia limfocytami T z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR) działa poprzez programowanie komórek odpornościowych pacjenta tak, aby rozpoznawały i działały na komórki z mutacjami nowotworowymi. Steven Rosenberg, kierownik chirurgii w National Cancer Institute, pomógł w opracowaniu terapii i opublikował pierwsze pomyślne wyniki w badaniu dotyczącym leczenia chłoniaka w 2010 roku.

„Ten pacjent miał rozlane ogniska choroby w klatce piersiowej i brzuchu, a doszło u niego do całkowitej regresji – mówi Rosenberg – regresji, która trwa już 11 lat”.

W terapii limfocytami CAR T wykorzystuje się białe krwinki, tak zwane limfocyty T, które stanowią pierwszą linię obrony przed patogenami. Stosuje się własne limfocyty T pacjenta, które są pobierane i genetycznie modyfikowane tak, aby mogły tworzyć receptory swoiste dla komórek nowotworowych. Po ponownym podaniu pacjentowi zmodyfikowane limfocyty T, które teraz mają zdolność rozpoznawania i atakowania komórek nowotworowych, namnażają się i pozostają w gotowości do przyszłych spotkań.

W 2016 roku badacze z University of Pennsylvania przedstawili wyniki leczenia limfocytami CAR T – preparat ten znany jest pod nazwą tisagenlecleucel – ostrej białaczki lim-

foblastycznej (acute lymphoblastic leukemia, ALL), jednego z najczęstszych nowotworów u dzieci. U pacjentów z ALL mutacje w DNA komórek szpiku kostnego powodują, że produkują one ogromne ilości limfoblastów, czyli niedojrzałych białych krwinek, które gromadzą się w krwiobiegu. Choroba szybko postępuje: prawdopodobieństwo wyleczenia u osób dorosłych jest niewielkie, a mniej niż połowa z nich przeżywa więcej niż pięć lat od momentu postawienia diagnozy.

Limfocyty CAR T skierowane przeciwko ALL są niezmordowane – pojedynczy zmodyfikowany limfocyt T może zabić nawet 100 tys. limfoblastów. W badaniu przeprowadzonym na University of Pennsylvania 29 na 52 pacjentów z ALL, u których zastosowano tisagenlecleucel, weszło w stan trwałej remisji. Na podstawie wyników tego badania FDA zatwierdziła terapię (produkowaną przez Novartis pod nazwą Kymriah) do leczenia ALL, a w następnym roku agencja zatwierdziła ją do stosowania w leczeniu chłoniaka rozlanego z dużych komórek B. Jednorazowy zabieg kosztuje ponad 475 tys. dolarów.

Terapia limfocytami CAR T niesie ze sobą pewne zagrożenia. Może prowadzić do poważnych działań niepożądanych, w tym zespołu uwalniania cytokin (cytokine release syndrome, CRS) – niebezpiecznej reakcji zapalnej, która przybiera postać od łagodnych objawów grypopodobnych w mniej nasilonych przypadkach do niewydolności wielonarządowej, a nawet śmierci. CRS nie jest swoisty dla terapii CAR T: naukowcy po raz pierwszy zaobserwowali go w latach 90. jako efekt uboczny terapii przeciwciałami stosowanymi przy przeszczepach narządów. Obecnie, dzięki połączeniu nowszych leków i czujności, lekarze lepiej rozumieją, jak daleko mogą się posunąć w leczeniu, aby nie wywołać CRS. Rosenberg mówi: „Wiemy, jak radzić sobie z skutkami ubocznymi, gdy tylko się pojawią, a poważne zachorowania i zgony z powodu zespołu uwalniania cytokin drastycznie zmalały w porównaniu z okresem początkowym”.

Do 2020 roku odsetek remisji u pacjentów z ALL poddanych leczeniu preparatem Kymriah wynosił około 85%. Ponad połowa nie miała nawrotów choroby po roku. Novartis planuje obserwować efekty u wszystkich pacjentów poddanych terapii przez 15 lat, aby lepiej zrozumieć, jak długo pozostaje ona skuteczna.

#### PRECYZYJNE EDYTOWANIE W CHOROBAH KRWI

Szczególnie skrupulatnie obserwowana jest jedna z nowości w dziedzinie terapii geno-

wej: edycja genów *in vivo* z użyciem systemu zwanego CRISPR, który stał się jedną z najbardziej obiecujących terapii genowych od czasu odkrycia go przez Jennifer Doudnę i Emmanuelle Charpentier w 2012 roku – za co otrzymały one Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii w 2020 roku. W czerwcu zeszłego roku opublikowano pierwsze wyniki niewielkiego badania klinicznego, mającego na celu leczenie niedokrwistości sierpowatokrwinkowej i ściśle powiązanej z nią chorobą, tzw. beta-talazemii.

Niedokrwistość sierpowatokrwinkowa dotyka milionów ludzi na całym świecie i powoduje wytwarzanie czerwonych krwinek w kształcie półksiężyca, które są bardziej lepkie i sztywne niż zdrowe krwinki, co może prowadzić do anemii i zagrażających życiu kryzysów zdrowotnych. Beta-talazemia, na którą cierpią kolejne miliony osób, pojawia się, gdy inna mutacja powoduje, że organizm wytwarza mniej hemoglobiny – białka bogatego w żelazo, które umożliwia czerwonym krwinkom przenoszenie tlenu. Przeszczep szpiku kostnego może być lekarstwem dla tych, którzy mogą znaleźć pasujących dawców, w przeciwnym razie jednak leczenie obu chorób polega głównie na transfuzjach krwi i farmakologicznym leczeniu powikłań.

Zarówno niedokrwistość sierpowatokrwinkowa, jak i beta-talazemia są powodowane przez dziedziczne mutacje pojedynczego genu, co czyni je dobrymi kandydatami do terapii opartej na edytowaniu genów. Metoda CRISPR-Cas9 wykorzystuje sekwencje DNA pochodzące z bakterii (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, czyli CRISPR) oraz enzym związany z CRISPR (w skrócie Cas) do edycji genomu pacjenta. Sekwencje CRISPR są przepisywane na RNA, które lokalizuje i identyfikuje sekwencje DNA odpowiedzialne za określone schorzenie. Po spakowaniu razem z Cas9, przepisane RNA lokalizuje sekwencję docelową, a Cas9 wycina ją z DNA, naprawiając lub dezaktywując w ten sposób problematyczny gen.

Na konferencji w czerwcu tego roku firmy Vertex Pharmaceuticals i CRISPR Therapeutics ogłosiły niepublikowane dotąd wyniki badań klinicznych pacjentów z beta-talazemią i niedokrwistością sierpowatokrwinkową, którym podawano CTX001, terapię opartą na CRISPR-Cas9. W obu przypadkach terapia nie wyłącza docelowego genu, dostarcza natomiast gen zwiększający produkcję zdrowej hemoglobiny płodowej, który normalnie jest wyłączany krótko po urodzeniu. CTX001 zastosowano u 15 osób z beta-talazemią – po trzech lub więcej miesiącach

u wszystkich nastąpił szybki wzrost poziomu hemoglobiny i nie wymagały już transfuzji krwi. To samo leczenie zastosowano u siedmiu pacjentów z ciężką niedokrwistością sierpowatokrwinkową. U wszystkich nastąpiło zwiększenie poziomu hemoglobiny; silny ból nie występował przez co najmniej trzy miesiące. Ponad rok później poprawa ta utrzymała się u pięciu osób z beta-talazemią i dwóch z niedokrwistością sierpowatokrwinkową. Badanie jest w toku, a pacjenci są nadal rekrutowani. Rzecznik prasowy firmy Vertex ma nadzieję, że uda się włączyć do badania łącznie 45 pacjentów i złożyć wnioski o zatwierdzenie leku w USA już w tym roku (2022).

### PRZERWAĆ ROZWÓJ POTENCJALNIE ŚMIERTELNEJ CHOROBY

Rdzeniowy zanik mięśni (spinal muscular atrophy, SMA) jest chorobą neurodegeneracyjną, w której neurony ruchowe – nerwy, które kontrolują ruchy mięśni i łączą rdzeń kręgowy z mięśniami i narządami – ulegają degradacji, nieprawidłowo funkcjonują i obumierają. Zazwyczaj diagnozuje się ją u niemowląt i małych dzieci. Podstawową przyczyną jest mutacja genetyczna, która hamuje produkcję białka biorącego udział w budowie i utrzymaniu neuronów ruchowych.

Wyróżnia się cztery typy SMA, uszeregowane według stopnia ciężkości i zależne od tego, ile białka są jeszcze w stanie wyprodukować neurony ruchowe danej osoby. W najcięższych przypadkach, typu I, nawet najbardziej podstawowe funkcje, takie jak oddychanie, siedzenie i połykanie, stają się niezwykle trudne. U niemowląt, u których zdiagnozowano SMA typu I, śmiertelność do pierwszego roku życia wynosiła w przeszłości 90%.

Adrian Krainer, biochemik z Cold Spring Harbor Laboratory, po raz pierwszy zainteresował się SMA, kiedy uczestniczył w warsztatach National Institutes of Health w 1999 roku. W tym czasie Krainer badał, w jaki sposób mutacje RNA powodują raka i choroby genetyczne wtedy, gdy zaburzają proces zwany splicingiem (splataniem, łączeniem), a naukowcy podejrzewali, że u podłoża SMA mogą leżeć nieprawidłowości tego procesu. Kiedy na podstawie zapisu w DNA powstaje RNA, musi zostać poddane edycji, polegającej na splicingu. W tym procesie edycji sekwencje niekodujące (introny) są wycinane, dzięki czemu pozostałe sekwencje kodujące (eksony) łączą się w łańcuch. W rezultacie powstaje dojrzałe RNA matrycowe (mRNA), które może posłużyć do produkcji białka (translacji).

Krainer zdał sobie sprawę, że istnieją podobieństwa między defektami związanymi z SMA a jednym z badanych przez niego mechanizmów – mianowicie błędem, który powstaje, gdy ważny ekson zostaje nieumyślnie utracony podczas splicingu RNA. U osób z SMA brakowało jednej z tych kluczowych sekwencji genowych, zwanej *SMN1*.

„Gdybyśmy mogli dowiedzieć się, dlaczego ten ekson jest pomijany, i znaleźli rozwiązanie tego problemu, prawdopodobnie pomogłoby to wszystkim pacjentom [z SMA]” – mówi Krainer. Rozwiązanie, na które wpadł on i jego współpracownicy, to tzw. terapia antysensowna, wykorzystująca pojedyncze łańcuchy syntetycznych nukleotydów do dostarczania instrukcji genetycznych bezpośrednio do komórek ciała [patrz „Naprawianie genów”, s. 33]. W przypadku SMA instrukcje pobudzają inny gen neuronu ruchowego, *SMN2*, który normalnie produkuje niewielkie ilości brakującego białka neuronu ruchowego, do wytwarzania go w znacznie większej ilości, dzięki czemu może skutecznie zastępować *SMN1*. Pierwsze badanie kliniczne testujące to podejście rozpoczęło się w 2010 roku, a w 2016 roku FDA zatwierdziła nusinersen (dostępny w sprzedaży jako Spinraza). Ponieważ substancja terapeutyczna nie wbudowuje się w genom, musi być podawana co cztery miesiące, aby utrzymać produkcję białka. Jest przy tym oszałamiająco droga: pojedyncza kuracja preparatem Spinraza kosztuje aż 750 tys. dolarów w pierwszym roku i 375 tys. rocznie w latach kolejnych.

Od roku 2016 zastosowano ją na całym świecie u ponad 10 tys. osób. Chociaż lek Spinraza nie przywraca całkowicie normalnych funkcji motorycznych (pojedynczy gen neuronu motorycznego po prostu nie jest w stanie wyprodukować wystarczającej ilości białka), może pomóc dzieciom z którymkolwiek z czterech typów SMA żyć dłużej i aktywniej. W wielu przypadkach preparat Spinraza poprawił funkcje motoryczne pacjentów, umożliwiając nawet osobom z cięższymi przypadkami samodzielne oddychanie, przełykanie i siedzenie w pozycji wyprostowanej. „Najbardziej uderzające są wyniki uzyskiwane u dzieci, których leczenie rozpoczęto zaraz po urodzeniu, po rozpoznaniu choroby genetycznej poprzez badania przesiewowe noworodków – mówi Krainer. – Można wtedy realnie zapobiec rozwojowi choroby – na wiele lat, a może nawet na zawsze”.

.....  
Jim Daley jest niezależnym dziennikarzem z Chicago. Pisze teksty dotyczące nauki i zdrowia.

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



*RAPORT SPECJALNY*

**SCIENTIFIC  
AMERICAN**

**nature**

[ScientificAmerican.com/InnovationsIn/gene-therapy](http://ScientificAmerican.com/InnovationsIn/gene-therapy)