

Zeitschrift: Jahresbericht / Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Rapport annuel / Académie suisse des sciences médicales = Rapporto annuale / Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: - (1989)

Artikel: Somatische Genterapie : experimentelle Grundlagen der Genübertragung

Autor: Meyer, François

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-308355>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 05.01.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

SOMATISCHE GENTHERAPIE: EXPERIMENTELLE GRUNDLAGEN DER GENÜBERTRAGUNG

FRANÇOIS MEYER

Einleitung

Zusätzlich zu den klassischen pharmazeutischen Therapiemöglichkeiten könnte die somatische Gentherapie in den nächsten Jahren bei der Heilung von wenigen bestimmten genetischen, oder auch anderen bis anhin unheilbaren Krankheiten, ihren Platz in der Heilmedizin einnehmen. Unter Gentherapie versteht man die Übertragung von einem «heilenden» Gen, und nicht dessen Genproduktes, in bestimmte somatische Zellen oder Organe des Körpers, wobei die regulierte Expression dieses Gens zur Heilung der Krankheit führen soll.

Genübertragung in somatische Zellen in vivo

Für die Genübertragung *in vivo* können mindestens 3 Szenarien erwogen werden. 1) Übertragung der Gene über die Blutbahn der Patienten durch gewebe- oder organspezifische virale Vektoren; 2) direkter Transfer in die Organe des Patienten; 3) Entnahme von Zellen oder Teilen des kranken Gewebes, Einführung des gewünschten Gens *in vitro* und Implantation des genetisch modifizierten autologen Gewebes *in vivo*. Dieses Verfahren wird gegenwärtig in vielen Laboratorien ausgearbeitet und wird im Folgenden näher erläutert.

Experimentelle Hilfsmittel der Genübertragung in Zellen

DNA kann durch eine Anzahl Methoden in Zellen transferiert werden, wo sie an unbestimmten Stellen in die chromosomale DNA des Wirtes integriert

wird. Biochemische Methoden wie Kopräzipitation der DNA mit Calciumphosphat oder positiv geladenen Polymeren (DEAE-Dextran), oder Verpackung der DNA in Liposomen einerseits und physikalische Methoden wie direkte Mikroinjektion der DNA in Zellkerne oder Elektroporation andererseits, zählen zu den Standardmethoden der Zell- und Molekularbiologie. Alle diese Methoden sind jedoch sehr ineffizient und eignen sich nicht für Gentherapie-Versuche. Die Übertragung der DNA mit rekombinanten Viren (virale Vektoren) hingegen zeichnet sich durch eine hohe Effizienz aus, d. h., bis zu 100% der Zielzellen können infiziert werden und werden deswegen intensiv als Vektorsysteme erforscht. Häufig verwendete virale Vektoren sind modifizierte, replikationsunfähige Retroviren, «retrovirale Vektoren» genannt, welche die Zielzelle nicht lysieren.

Sie können 7–8 kb Fremd-RNA in ihre Hülle verpacken und weisen ein breites Wirtsspektrum auf. Zu berücksichtigende Nachteile dieser Vektoren sind jedoch die unspezifische Integration im Wirts-Chromosom und die auftretende Schwierigkeit, rekombinante Viren, welche frei von replikationsfähigem Helfer-Virus sind, zu erhalten. Weiterhin zeigen retrovirale Vektoren, welche Fremdgene enthalten, oft niedrige Virustiter. Aufgrund solcher Schwierigkeiten sucht man weiterhin in zahlreichen Laboratorien nach alternativen, nicht cytopathischen viralen Vektoren, wie z. B. adenoassoziierten Viren (AAV), Adenovirus, Herpes simplex Typ 1 (HSV-1) oder Cytomegalovirus (CMV). Es gibt jedoch erst wenig Information über ihre Stabilität und Einsetzbarkeit *in vivo*.

Genübertragung in Knochenmark-Stammzellen

Totipotente Knochenmark-Stammzellen können durch retrovirale Vektoren infiziert werden. Durch eine Vielzahl von Experimenten in der Maus und zu einem geringen Ausmass in Affen und Hunden konnte gezeigt werden, dass nach Übertragung von Genen in Knochenmark-Stammzellen *in vitro* und anschliessender Implantation *in vivo* in einigen seltenen Fällen unter bestimmten Bedingungen das gewünschte Gen während Monaten *in vivo* exprimiert wurde. In den meisten Experimenten wurde jedoch nur eine kurze, vorübergehende Genexpression nachgewiesen. Diese unstabile Langzeitexpression könnte bedeuten, 1) dass eine erfolgreiche Infektion der totipotenten Stammzellen selten ist, und dass häufiger bereits zum Teil weiter differenzierte Vorläuferzellen infiziert werden, die eine kürzere Lebensdauer aufweisen; 2) dass das integrierte Provirus instabil ist; 3) dass das Provirus zwar im Genom integriert ist, jedoch nicht exprimiert wird. Eine ausgezeichnete Möglichkeit, die Genübertragung und Expression systematisch zu

untersuchen, eröffnen *in vitro* gereinigte Stammzellen. Die Hauptaktivitäten konzentrieren sich hierbei auf die Genübertragung in totipotente Stammzellen einerseits und auf die Expression des Fremdgens nach Transplantation *in vivo* andererseits.

Gegenwärtige Kandidaten für eine Gentherapie von Knochenmarkkrankheiten sind vor allem die Immundefizienz-Syndrome, wie AIDS, wo die neuesten Entwicklungen eine «intrazelluläre Immunisierung» als potentielle Gentherapie ermöglichen könnten. Für eine Gentherapie kommen aber auch Krankheiten wie die chronische Granulomatose, die Gaucher-Krankheit oder solche, die auf einen Enzym-Defekt, wie z. B. Adenosin-Deaminase (ADA) oder Purin-nukleosid-Phosphorylase (PNP), zurückzuführen sind. Bei den Globinopathien wie der Thalassämie können die neuen Befunde, die zum tieferen Verständnis der Globinexpression beitragen, die Möglichkeit ergeben, das Problem der Expression *in vivo* zu lösen und somit diese Krankheit einer Gentherapie näher zu bringen.

Genübertragung in Leberzellen

Die Leber ist ein wichtiges Zielorgan für somatische Gentherapie, da viele genetisch-metabolische Krankheiten Indikationen für Lebertransplantationen darstellen. Die direkte Geneinführung mit retroviralen Vektoren *in vivo* war bis anhin erfolglos.

Neuentwicklungen auf dem Gebiet der Hepatozyten-Transplantation stimulierten jedoch eine Anzahl von Laboratorien, Gene *in vitro* in Hepatozyten einzuführen. Tatsächlich konnten klinisch relevante Gene *in vitro* in differenzierte Hepatozyten übertragen und exprimiert werden, wie dies am Beispiel von low density lipoprotein-Rezeptor (LDLR), Phenylalanin-Hydroxylase und α_1 -Antitrypsin gezeigt werden konnte. Die gegenwärtigen Anstrengungen bestehen nun darin, die genetisch modifizierten Hepatozyten *in vivo* zu implantieren und auf einen therapeutischen Effekt zu prüfen.

Genübertragung in Endothelzellen

Genetisch modifizierte Endothelzellen, welche Hormone oder Blutfaktoren sekretieren, könnten durch Einführung via Katheter an die Innenwand der iliofemuralen Arterie oder durch Beschichtung von Prothesen nach einer Bypass-Gefäßstransplantation zur Gentherapie von Krankheiten führen, welche durch zirkulierende Proteine behandelt werden können, wie z. B. bei kardiovaskulären Krankheiten.

Gentransfer in Hautzellen

Ähnlich wie bei den Endothelzellen besteht die Möglichkeit, die *in vivo* implantierten, genetisch modifizierten Keratinozyten und Fibroblasten als Quelle zur Synthese von Proteinen, welche in die Blutbahn sekretiert werden sollen, zu benutzen. In ersten Versuchen konnte die Sekretion von Faktor IX in Mäusen nachgewiesen werden. Es bleibt abzuklären, ob genügend Produkt in regulierter Art und Weise nach *in vivo* Transplantation der Zellen erhalten werden kann.