

Informationen zu den ersten klinischen Versuchen zur Behandlung von RPE65^{-/-} Patienten durch AAV vermittelte Gentherapie in den USA und England

Die frühkindliche Netzhautdystrophie aufgrund von Mutationen im RPE65 Gen ist eine sehr seltene Erkrankung, die schätzungsweise bei etwa 200 Patienten in Deutschland vorliegt. Die klinischen Symptome beinhalten schwere bis schwerste Seheinschränkungen innerhalb der ersten 2 Lebensjahre, die zur völligen Erblindung vor Erreichen des 20. Lebensjahres führen können. Ausnahmsweise kommen auch deutlich mildere Verlaufsformen vor. Bei früh beginnender schwerer Symptomatik werden Patienten mit dieser Erkrankung auch mit einer sogenannten Leberschen kongenitalen Amaurose diagnostiziert.

Das Gen RPE65 wird im retinalen Pigmentepithel (RPE) exprimiert, welches eine Einzelzellschicht ist, die unmittelbar benachbart zu den lichtempfindlichen Zellen der Netzhaut (Photorezeptoren in der Retina) liegt und mit diesen eine enge funktionelle Einheit bildet. Das Genprodukt, das Protein RPE65, ist ein sehr wichtiges Enzym im visuellen Zyklus und ist maßgeblich an der Wiederherstellung des aktiven Sehpigmentes Rhodopsin beteiligt. Wenn es durch Mutationen vermindert funktionsfähig ist oder gar nicht hergestellt wird, also die Funktion völlig fehlt, dann wird kein 11-cis Retinal hergestellt, welches der lichtempfindliche Bestandteil des Rhodopsin (Sehpigment) ist. Die Patienten haben dadurch praktisch immer von Geburt an eine schwere Einschränkung des Dunkelsehens, die Sehschärfe im Hellen ist unterschiedlich stark in Abhängigkeit von der Mutationsart und dem Lebensalter herabgesetzt.

In der Maiausgabe des *New England Journal of Medicine* wurden zeitgleich 2 Studien über Gentherapieversuche beim Menschen veröffentlicht^{1,2}. In diesem Statement möchten wir dazu Stellung nehmen sowie Sie als Patienten informieren.

Die neuartige Behandlungsform für RPE65 Mutationen besteht im Transfer einer korrekten Kopie des Gens RPE65 in die RPE Zellen. Das Konzept ist, dass dadurch ein korrektes und funktionelles Protein hergestellt wird, welches dann auch die normale Funktion der Zellen wiederherstellt.

Zum Transfer des Gens wird eine rekombinante Variante des sogenannten adeno-assoziierten Virus (AAV) hergestellt (Transfervektor), in der die gesamte virale DNA Sequenz entfernt wurde und durch eine Expressionskassette (Therapiegen + Steuersequenzen) mit dem korrekten RPE65 Gen ersetzt wurde. Dieser virale Vektor wird subretinal (unter die Netzhaut und oberhalb des Pigmentepithels) injiziert, wodurch er in direktem Kontakt mit den betroffenen RPE Zellen kommt und diese transduziert (eindringt und mit dem transferierten Gen ein funktionsfähiges Protein herstellt).

Diese Form der Therapie wurde intensiv an Maus- und Hundemodellen getestet. Besonders das natürlich vorkommende Hundemodell des Briard Hundes mit nicht vorhandenem RPE65 Protein hat viel dazu beigetragen, die Behandlung zu optimieren und die klinischen Versuche vorzubereiten. Bei diesen Hunden war die gentherapeutische Behandlung sehr erfolgreich.

In den nun veröffentlichten Studien wurden jeweils 3 Patienten in London, England, und in Philadelphia, USA, behandelt. Die Patienten waren zwischen 17 und 26 Jahre alt.

Beide Studien waren als Phase I klinische Studien mit dem Hauptziel geplant, die Sicherheit der Behandlungsform beim Menschen nachzuweisen. Daher ist das wichtigste Ergebnis dieser Versuche, dass es zu keinen unerwünschten Nebenwirkungen gekommen ist. Lediglich bei einem der Patienten entwickelte sich ein makuläres Loch in der Retina (Loch im Zentrum der Netzhaut), welches aber nicht entzündungsbedingt war und den Patienten nicht störte.

Obwohl einige der Patienten nach erfolgter Behandlung über subjektive Verbesserungen der Sehfähigkeit und Lichtempfindlichkeit berichteten, konnte objektiv im Elektroretinogramm keine Verbesserung festgestellt werden. Diese Beobachtung ist wahrscheinlich daher zu erklären, dass die Patienten schon in einem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung waren und daher die Behandlung zu spät erfolgte. In zukünftigen Studien soll das Alter der Behandelten darum herabgesetzt werden.

Eine weitere Studie wurde im selben Zeitraum in Florida, USA, durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Studie sind noch nicht veröffentlicht worden, decken sich aber mit den Ergebnissen der oben genannten Studien. Ein 4. klinischer Versuch soll im nächsten Jahr an der Universität in Nantes, Frankreich, beginnen. Alle 4 Studien unterscheiden sich etwas hinsichtlich des Transfervektors, der Injektionstechnik und der Expressionskassette.

Die Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde in Giessen besitzt große Erfahrung in der Diagnostik von Patienten mit RPE65 Mutationen. Die Direktorin Prof. Lorenz ist eine weltweit anerkannte Spezialistin auf diesem Gebiet, Patienten aus ganz Europa und darüber hinaus kommen hierher, um sich untersuchen zu lassen. Die weiterführende klinische, elektrophysiologische und molekulargenetische Diagnostik von Patienten mit frühkindlichen Erblindungen ist ein Schwerpunkt unserer Klinik sowie des Labors für Molekulare Ophthalmologie unter Leitung von Herrn Dipl. Biol. Dr. Preising.

Aus diesen Gründen konnte eine in Anbetracht der Seltenheit der Erkrankung große Patientengruppe mit Mutationen im RPE65 Gen identifiziert und eingehend charakterisiert werden. Diese Untersuchungen sind die unbedingte Voraussetzung, um später an klinischen Studien teilnehmen zu können.

Die Direktorin der Klinik sowie Mitarbeiter des Labors für Molekulare Ophthalmologie sind an den Vorbereitungen des klinischen Versuches der Gentherapie von RPE65 Patienten in Nantes, Frankreich, beteiligt. Herr Dr. Stieger hat in Nantes mehrere Jahre an der Entwicklung der Gentherapie für RPE65^{-/-} Mutationen mitgearbeitet und umfangreiche Erfahrung auf diesem Gebiet sammeln können.

Wir glauben, dass diese neuartige gentherapeutische Behandlungsmethode eine vielversprechende Möglichkeit darstellt, um Patienten mit RPE65 Mutationen

behandeln zu können. Daher beteiligen wir uns an der Vorbereitung dieses klinischen Versuches und seiner Durchführung.

Sollten Sie diesbezüglich weitere Fragen haben, stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung.

Prof. Dr. med. Birgit Lorenz
Dr. rer. medic. Markus Preising
Dr. med. vet. PhD Knut Stieger

Birgit.Lorenz@uniklinikum-giessen.de
Markus.Preising@uniklinikum-giessen.de
Knut.Stieger@uniklinikum-giessen.de

Referenzen:

1. Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS et al. Effect of Gene Therapy on Visual Function in Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med* 2008.
2. Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA et al. Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med* 2008.

weiterführende Literatur zum Thema:

1. Preising MN, Paunescu K, Friedburg C, Lorenz B. Genetic and clinical heterogeneity in LCA patients. The end of uniformity. *Ophthalmologie*. 2007 Jun;104(6):490-8. German.
2. Le Meur G, Stieger K, Smith AJ, Weber M, Deschamps JY, Nivard D, Mendes-Madeira A, Provost N, Péréon Y, Cherel Y, Ali RR, Hamel C, Moullier P, Rolling F. Restoration of vision in RPE65-deficient Briard dogs using an AAV serotype 4 vector that specifically targets the retinal pigmented epithelium. *Gene Ther*. 2007 Feb;14(4):292-303.
3. Le Meur G, Stieger K, Smith AJ, Weber M, Deschamps JY, Nivard D, Mendes-Madeira A, Provost N, Péréon Y, Cherel Y, Ali RR, Hamel C, Moullier P, Rolling F. Gene therapeutic prospects in early onset of severe retinal dystrophy: restoration of vision in RPE65 Briard dogs using an AAV serotype 4 vector that specifically targets the retinal pigmented epithelium. *Bull Mem Acad R Med Belg*. 2006;161(10-12):497-508; discussion 508-9.
4. Wabbels B, Demmler A, Paunescu K, Wegscheider E, Preising MN, Lorenz B. Fundus autofluorescence in children and teenagers with hereditary retinal diseases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jan;244(1):36-45.
5. Zernant J, Külm M, Dharmaraj S, den Hollander AI, Perrault I, Preising MN, Lorenz B, Kaplan J, Cremers FP, Maumenee I, Koenekoop RK, Allikmets R. Genotyping microarray (disease chip) for Leber congenital amaurosis: detection of modifier alleles. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005 Sep;46(9):3052-9.
6. Paunescu K, Wabbels B, Preising MN, Lorenz B. Longitudinal and cross-sectional study of patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with RPE65 mutations. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005 May;243(5):417-26.

7. Lorenz B, Wabbers B, Wegscheider E, Hamel CP, Drexler W, Preising MN. Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65. *Ophthalmology*. 2004 Aug;111(8):1585-94.
8. Lorenz B, Gyürüs P, Preising M, Bremser D, Gu S, Andrassi M, Gerth C, Gal A. Early-onset severe rod-cone dystrophy in young children with RPE65 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Aug;41(9):2735-42.
9. Thompson DA, Gyürüs P, Fleischer LL, Bingham EL, McHenry CL, Apfelstedt-Sylla E, Zrenner E, Lorenz B, Richards JE, Jacobson SG, Sieving PA, Gal A. Genetics and phenotypes of RPE65 mutations in inherited retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Dec;41(13):4293-9.
10. Gu SM, Thompson DA, Srikumari CR, Lorenz B, Finckh U, Nicoletti A, Murthy KR, Rathmann M, Kumaramanickavel G, Denton MJ, Gal A. Mutations in RPE65 cause autosomal recessive childhood-onset severe retinal dystrophy. *Nat Genet*. 1997 Oct;17(2):194-7.