

Vigtige fremskridt indenfor næste generation af genomredigerende værktøjer til Huntingtons Sygdom



Arbejde med genomredigeringsteknikker (zink fingre og CRISPR) bringer redskaberne tættere på klinisk afprøvning i HS

Skrevet af Mr. Shawn Minnig den 22. november 2016

Redigeret af Dr Jeff Carroll; Oversat af Cecilie Wennemoes Willert

Oprindelig offentliggjort 31. oktober 2016

Den seneste tid har været præget af nyheden om brugen af noget kaldet “genomredigering” som en potentiel behandlingsform for genetiske sygdomme såsom Huntingtons Sygdom. Disse metoder inkluderer værktøjer med eksotiske navne som “zink finger nukleaser” og “CRISPR/Cas9” og adskiller sig markant fra de mere traditionelle metoder, der bruges til at mindske virkningen af HS-mutationen i celler. Hvad er nyt indenfor dette spændende forskningsområde?

Genopfriskning af Huntingtin nedregulering

Der har i den seneste tid været en masse begejstring omkring udviklingen af en ny **huntingtin-sænkende**, også kaldet **genhæmmende**, behandling af Huntingtons Sygdom. Det første af disse potentielle lægemidler, der bliver afprøvet i kliniske studier i mennesker med HS er **antisense oligonukleotider** (ASOs), som virker ved at nedsætte mængden af det skadelige, mutante huntingtinprotein, der produceres af cellen, og behandlingen begrænser dermed de skader, det mutante protein kan forårsage.

De, der har fulgt rigtig godt med, ved, at det første studie, der skal vurdere sikkerheden ved brugen af ASOer i humane HS-patienter, er i gang i øjeblikket (<http://da.hdbuzz.net/204>). Nogle læsere kan måske også huske, at ASOer ikke er den eneste spiller på banen, når det kommer til innovative måder at reducere mængden af det skadelige huntingtinprotein på.

Faktisk har to andre nye behandlingsteknikker, kendt som **zink finger nukleaser** og **CRISPR**, også skabt en del omtale på det sidste. Selvom vi tidligere har beskrevet begge metoder, vil en hurtig gennemgang af måden de virker på og forskellene mellem dem være nyttig for at kunne forstå nogen af de nye opdagelser.



Dit DNA er ligesom en overordnet instruktion for hvordan man bygger dig, mens mRNA er ligesom en arbejdskopi af byggeinstruktionerne, der gives til arbejderne, så opbygningen kan ske effektivt

Du husker sikkert fra din tidligste biologiundervisning, at dit DNA indeholder et detaljeret sæt instruktioner til hvordan man bygger, ja, dig! Hver celle i din krop er ligesom en byggeplads, og dit DNA fungerer som instruktioner til, hvordan de mest simple byggeklodser (kaldet aminosyrer) skal sættes sammen og blive til funktionelle proteiner, som bidrager til alle dine unikke funktioner og sørger for, at din krop kan fungere uden problemer.

DNA-instruktionerne til opbygning af specifikke proteiner kalder vi *gener*, og vi har alle to kopier af genet for det vigtige protein *huntingtin*. Symptomer forbundet med Huntington Sygdom opstår netop fordi et af disse sæt genetiske instruktioner har udviklet en fejl, som resulterer i, at huntingtinproteinet bygges forkert.

Lad os komme i gang med byggeprocessen

Inde i hver af din krops celler ligger dit DNA gemt og beskyttet dybt inde i et sted kaldet kernen – lidt ligesom hvis plantegningerne for en bygning var blevet låst væk af byggelederen på sit kontor, for at forhindre dem i at blive ødelagt.

På en rigtig byggeplads ville det være en meget langsommelig og ineffektiv proces, hvis alle medarbejdere var nød til at tage forbi byggelederens kontor, hver gang de skulle bruge de samme sæt byggeinstruktioner, og det samme gør sig gældende i vores celler.

For at undgå dette problem laver cellerne en arbejdskopi af byggeinstruktionerne og bruger dem som skabelon til at bygge proteiner. Denne arbejdskopi kaldes **messenger RNA** eller **mRNA** og er kopieret fra det oprindelige DNA i kernen, hvorfra det sendes ud og bruges til at opbygge mange kopier af samme protein(er).

Hvis vores DNA er ligesom en original byggeinstruktion, så kan mRNA betragtes som en meget enklere kopi af samme byggeinstruktion, der leveres af byggelederen til sine medarbejdere, så de effektivt kan gå i gang med byggeprocessen. Dette kan virke forvirrende, men til vores formål behøver du kun at forstå de tre trin involveret i opbygningen af et protein: DNA -> mRNA -> protein.

ASOs, zink finger & CRISPR: samme mål – forskellige midler

Det er vigtigt at skelne mellem HS-genet på DNA- og mRNA niveau, idet de angribes på forskellige måder af de huntingtin-sænkende behandlingsformer, der hurtigt udvikler sig. Disse inkluderer et hav af forskellige teknikker, såsom **ASOs**, **zink finger** og en nyere metode kaldet **CRISPR/Cas9**. Dybest set har alle disse teknikker samme mål for øje: at reducere mængden af det skadelige mutante huntingtinprotein, der produceres i cellerne. Dog opnås dette mål på meget forskellige måder.

Blandt de tre muligheder har ASOs været på banen i længst tid, hvilket nok ikke overrasker dig, når de nu som de første bliver testet i mennesker med HS. ASOs virker ved at fortælle cellen, at den skal skyde budbringeren, som i dette tilfælde er mRNA, der bærer byggeinstruktionerne fra DNA til at lave et protein. I en behandlet celle vil ASO-lægemidlet bogstavelig talt klistre sig fast

til netop dét mRNA, som bærer instruktionerne til fremstillingen af det skadelige mutante huntingtinprotein, og det vil dermed overtale cellen til at hugge det i stykker, så proteinet ikke længere kan produceres.

Mange forskere og folk i HS-fællesskabet er meget begejstrede over at ASO-lægemidlet nu afprøves som en mulig behandling for HS, men faktum er, at ASO-lægemidlet ikke rammer den egentlige årsag til HS (det defekte HS-gen kodet i en persons DNA) og dermed er et skridt bagud ved kun at gå efter mRNAet. Da det mutante huntingtin-gen stadig er til stede i DNAet, vil cellen stadigvæk være i stand til at producere mutant huntingtin mRNA og potentielt mutant protein, hvis ikke behandlingen med ASOer fortsættes gennem hele livet.

I modsætningen til huntingtin-hæmning ved hjælp af ASOer, er nyere teknikker som **zink finger** og **CRISPR/Cas9** en form for genomredigerende metoder. Disse fantastiske nye værktøjer gør det muligt for forskere at ramme den ultimative kilde til problemet – nemlig det mutante DNA. Disse værktøjer giver forskerne mulighed for præcist at ramme specifikke områder i DNAet (såsom instruktionerne til at lave huntingtinproteinet) og derefter udføre en række nyttige tricks.

Et af disse tricks er at indsætte et stop-signal til cellen. Når maskineriet, der normalt læser DNAet, ankommer til det mutante HS-gen, kan særligt designede genomredigeringsværktøjer få dem til at springe over, ved at fortælle dem, at de ikke skal udføre deres arbejde ved lige præcis dét gen.

Dette resulterer i, at der aldrig vil blive dannet hverken mutant huntingtin mRNA eller protein. Bemærk, at dette er anderledes i forhold til hvordan ASOer virker, da ASOer i stedet nedbryder mRNA, som allerede er blevet dannet.

Et vigtigt nyt genomredigerende værktøj kaldet **CRISPR/Cas9** har for nyligt vakt stor opsigt blandt en masse mennesker. Dette værktøj er lånt fra bestemte bakteriearter, hvor de normalt virker som en slags immunforsvar, som tillader, at fremmede organismers DNA sættes ind i deres eget DNA. Meget kloge mennesker tog disse værktøjer fra bakterierne og byggede dem om, så forskerne kunne bruge dem til at klippe i DNAet ved specifikke sekvenser.

I teorien og i laboratoriet kan CRISPR-teknikken anvendes til at klippe ved specifikke DNA-sekvenser, så cellen ikke længere kan aflæse et gen. De kan også bruges til at lave specifikke ændringer i DNA-sekvenserne – ja, i teorien vil det sågar være muligt at reparere mutationer, ligesom den, der forårsager Huntingtons Sygdom. Ved at ramme årsagen til HS (HS-genet) vil man kunne sikre sig, at både mutant huntingtin mRNA og mutant huntingtinprotein ikke længere dannes og derfor ikke længere kan forårsage skade.

Sikkerhed frem for alt!

Hvis du undrer dig over, hvorfor vi ikke allerede afprøver disse nye værktøjer som lægemidler, er det fordi mange ting skal ske i den rigtige rækkefølge, når man udvikler lægemidler, for at sikre, at det færdige produkt er både sikkert og effektivt, før det kan testes i HS-patienter.

Først er forskerne nødt til at finde ud af, hvordan de skal få de forskellige stoffer ind i hjernen, hvor det mutante huntingtinprotein har den mest skadelige effekt. Dette er vanskeligt - vores hjerne er særligt god til at holde ting ude, som kunne være potentielt skadeligt for den, og desværre er den ikke umiddelbart villig til at give lægemidlerne en fribillet ind. Hvis vi forsøgte at give lægemidlerne i form af en pille eller at sprøjte dem ind i blodet, ville vores kroppe nedbryde dem og gøre dem ubrugelige, længe før de nåede ind i hjernen.

Da ASOer har eksisteret et stykke tid, har forskerne haft lidt mere tid til at løse dette problem, selvom deres løsning langt fra er perfekt. De ASOer, som bruges i de menneskelige HS-forsøg, bliver sprøjtet ind i væsken omkring hjernen og rygmarven, kaldet cerebrospinalvæsken. Vi har al mulig grund til at tro på, at dette vil virke, men det er selvfølgelig mere besværligt end bare at sluge en pille.

Genomredigerende værktøjer som CRISPR og zink fingers er endnu mere komplicerede at levere end deres ASO kollegaer. Det er fordi, de faktisk selv er proteiner, og disse er svære at få leveret intakte ind i cellerne.

For at undgå dette problem får forskerne en harmløs virus til at instruere hjernecellerne i at producere disse proteiner. Hjernecellerne snydes altså til at producere de genomredigerende værktøjer ved hjælp af det samme maskineri, som bruges til at bygge deres egne proteiner. Man kan altså på den måde forvandle cellerne til små fabrikker, der danner deres egne lægemidler!

Hvad er nyt omkring brugen af zink finger til HS?

Mange forskerhold har arbejdet hårdt på at løse de ovennævnte problemer for at kunne benytte disse nye teknikker til behandling af HS. HDBuzz har tidligere rapporteret om en gruppe forskere fra Spanien, som testede et nyt zink finger lægemiddel i en HS-musemodel i et kortvarigt studie (<http://da.hdbuzz.net/103>).

For nylig udviklede og testede det samme forskerhold – ledet af Mark Isalan, som nu arbejder på Imperial College i London – en opdateret udgave af deres lægemiddel for at se, om de kunne forbedre dets virkning i en længere periode og reducere den skadelige reaktion fra immunsystemet i hjernen, som opstod fordi lægemidlet blev leveret i hjernen ved brug af en harmløs virus kaldet adeno-associeret virus (AAV).

Efter nogle omfattende biokemiske fiflerier var Isalan og hans kollegaer i stand til at vise, at deres nye og forbedrede zink finger kandidat sænkede mængderne af skadeligt mutant huntingtinprotein mere effektivt end den tidligere version. Desuden varede effekten af den nye kandidat i længere tid og var bedre til selektivt at ramme HS-genet, hvormed den altså viste langt større sikkerhed end den tidligere version.

Disse observationer er meget spændende og kan være med til at bane vejen for at brugen zink



Dybest set har alle disse teknikker samme mål for øje: at reducere mængden af det skadelige mutante huntingtinprotein, der produceres i cellerne. Dog opnås dette mål på meget forskellige måder



finger teknikken til behandling af HS i mennesker! Dette langsomme, men tålmodige, arbejde med zink finger proteiner svarer lidt til hvad der skete med ASO-lægemidlet, som har haft mange års forspring indenfor genomredigerende værktøjer.

Hvad med CRISPR?

Selvom CRISPR-teknologien af mange betragtes som den mest præcise måde at gennemføre genomredigering på, så er teknologien stadig meget ny og forskerne har derfor haft meget mindre tid at rette den til sammenlignet med andre teknikker.

I et spændende forsøg på at benytte CRISPR som en behandlingsmulighed i HS, udviklede et forskerhold ledet af Jong-Min Lee på Massachusetts General Hospital for nylig et CRISPR-kompleks, som selektivt kunne ramme den mutante, men ikke den normale udgave af HS-genet i celler i en petriskål. Ved at udnytte CRISPR-teknikkens evne til specifikt at målrette sin effekt, var de altså i stand til at instruere cellerne til at klippe det mutante HS-gen ud, mens den raske udgave forblev intakt.

Selvfølgelig er der langt fra at vise, at en given behandling virker effektivt på celler i en petriskål til at vise, at det rent faktisk også virker effektivt når det afprøves i et levende væsen. Dette gør sig især gældende for teknikker som CRISPR – så vidt vi ved, kræver det en virus, der kan aflevere instruktionerne til hver af vores **100 milliarder** hjerneceller, hvis de alle sammen skal kunne blive reddet fra virkningen af det mutante HS-gen.

En anden risikofaktor ved CRISPR og andre genomredigerende værktøjer er, at de går ind og laver permanente ændringer i DNA'et. Dette er markant anderledes fra andre lægemidler som for eksempel ASOer, som modsat forsvinder fra hjernen gradvist, hvis de ikke bliver leveret igen og effekten vil derfor fortage sig over tid.

Ved første øjekast synes denne idé fantastisk! Hvis vi kunne kurere HS med en enkelt behandling, ville vi selvfølgelig foretrække at gøre det. Men vi er stadig usikre på de langsigtede effekter i forbindelse med permanent at fjerne HS-genet og dermed reducere mængden af huntingtinprotein, uanset om det er mutant eller ej. På nuværende tidspunkt kan vi ikke udelukke risikoen for, at det at man permanent fjerner det ene HS-gen kan være forbundet med nogle alvorlige helbredsmæssige problemer, som først dukker op senere. Vi er derfor nød til at bruge en betydelig mængde tid på at studere virkningerne, før vi ved om det vil være sikkert.

Hvad er næste skridt?

Der er stadig meget arbejde, som skal gøres, før genomredigeringsteknikker som zink finger og CRISPR vil blive en mulig behandlingsform for Huntingtons Sygdom, men forskningen præsenteret her viser, at vi har taget nogle vigtige skridt i den rigtige retning for at kunne opnå dette mål.

Selvom det seneste arbejde viser, at zink finger behandlingsformen er effektiv i en musemodel af HS – hvis hjerner er mindre end en krone – vil det være langt sværere at vise, at den kan være effektiv i mennesker, idet vores hjerner er meget større, langt mere komplekse og

besidder en masse udfordringer, som først skal overvindes. CRISPR som behandlingsform vil sandsynligvis tage endnu længere tid, fordi vi først skal lægge planer for at teste dens effektivitet i musemodeller af HS.

Der er dog ingen grund til at miste modet – tværtimod mener vi, at det modsatte burde gøre sig gældende! Den mest spændende del omkring den aktuelle forskning er netop, at vi har flere forskellige muligheder at vælge imellem til at udvikle huntingtin-sænkende behandlingsformer til HS. Selv hvis det viser sig, at en af mulighederne ikke fungerer som vi håbede, vil vi stadig blive ved med at gøre fremskridt indenfor udviklingen af nye behandlingsmetoder, som også gavner muligheden for effektiv behandling af HS.

Denne idé har fået mange til at hoppe med på vognen – senest er de to medicinalvirksomheder Sangamo Bioscience og Shire Pharmaceuticals gået sammen om at fremskynde udviklingen af zink finger metoden som en mulig behandlingsform til Huntingtons Sygdom. Selvom det vil tage noget tid at rette til, tror vi kun det er et spørgsmål om tid, før det samme vil gøre sig gældende for CRISPR. Personligt mener vi, at de fremskridt der er blevet gjort indtil nu giver os rigtig meget at være begejstrede omkring!

Forfatterne har ingen interessekonflikter. For mere information om vores offentliggørelsespraksis kig under FAQ...

Ordliste

Genomredigering brugen af zink finger nukleaser eller CRISPR til at lave ændringer i DNAet. "Genom" er et ord, som bruges om alt det DNA vi hver især har

Messenger RNA et RNA budbringer-molekyle, som bruges af cellerne til at lave de endelige arbejdskopier til produktionen af proteiner

Aminosyrer byggestenene som proteiner er lavet af

CRISPR et system, der kan bruges til at lave præcise ændringer i DNA

Effekt et mål for om en behandling virker eller ej

ASOer en slags genhæmningsbehandling hvor specialdesignede DNA-molekyler anvendes til at slukke for et bestemt gen

© HDBuzz 2011-2018. Indholdet på HDBuzz kan frit deles under en Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported License.

HDBuzz er ikke en kilde til lægefaglige råd. For mere information besøg hdbuzz.net

Dannet 20. januar 2018 — Downloaded fra <https://da.hdbuzz.net/228>