

Presentatie Erwin van Wijk: Genetische therapie voor het Ushersyndroom: toekomstmuziek of....?

Wereldwijd zijn er 400.000 mensen met het Ushersyndroom, gekenmerkt door doofheid of slechthorendheid, retinitis pigmentosa en eventueel evenwichtsstoornissen. Er is tot nu toe geen genezing mogelijk. Wel zijn er hulpmiddelen om de beperkingen in het horen en zien zo goed mogelijk op te vangen.

Er wordt door verschillende onderzoeksgroepen over de hele wereld gewerkt aan het ontwikkelen van een gentherapie.

Tot nu toe zijn er op 11 chromosomen 10 genen gevonden, die betrokken zijn bij het ontstaan van het Ushersyndroom. Nog lang niet alle mutaties (fouten) in deze genen zijn bekend.

Deze genen bevatten een code voor eiwitten die nodig zijn voor het goed functioneren van het netvlies en het binnenoor. Als er een mutatie is in het gen, werkt het gen niet goed meer. Meest voorkomend zijn de genmutaties voor Usher 1B en Usher 2A.

De eiwitten in het oor en in het oog werken samen in een soort netwerk. Wanneer door een mutatie 1 eiwit niet goed of helemaal niet aangemaakt wordt, valt dit netwerk als het ware uit elkaar en functioneert het niet meer zoals het moet. En dan is er sprake van bijvoorbeeld het Ushersyndroom.

Het ontdekken van de diverse betrokken genen en mutaties is belangrijk voor een goede diagnose. Hierdoor kunnen mensen een betere prognose krijgen over het verloop van de ziekte. Ook kan er bijvoorbeeld aan ouders advies gegeven worden over het herhalingsrisico bij een volgende zwangerschap.

Daarnaast is men ook aan het onderzoeken hoe deze ziekte door middel van gentherapie stop te zetten.

Momenteel zijn voor diverse ziekten 4 soorten gentherapie in ontwikkeling:

1. Gen-toevoeging
2. Gen-reparatie
3. Correctie van het effect van de mutatie
4. Celvervanging

Voor het Ushersyndroom wordt er in diverse onderzoeksgroepen gewerkt aan gentherapie voor Usher 1b 1c.1f.1g, 2a, 2c, 2d en 3a

Gentherapie voor Ushersyndroom 1b is het verst in ontwikkeling, Daar is men begonnen met een klinische proef met patiënten . Het is nog niet bekend wat de resultaten tot nu toe zijn.

Het vervangen van de afgestorven cellen in het netvlies en binnenoor (gentherapie door celvervanging) is nog verre toekomstmuziek en wordt nu niet verder besproken.

Gen toevoeging:

Hier wordt een goed gen (zonder mutatie of fout) door middel van een virus ingespoten. Dit goede gen gaat dan zorgen voor de aanmaak van het eiwit dat door de mutatie niet aangemaakt wordt.

Bij een aantal onderzoeken bij Usher 1b,1c,1g, en 2d is in diermodellen herstel van gehoor en evenwicht geconstateerd.

De efficiëntie, is niet overal even hoog, het herstel van de normale functie valt dan tegen. En er is het risico van off-target effect: door het toevoegen van extra gen, kunnen er ook op andere plekken het DNA veranderingen ontstaan die je niet wilt.

Gen-reparatie (translational read through)

Bij deze vorm van gentherapie wordt bewerkstelligd dat de mutatie als het ware overgeslagen wordt bij het "lezen" van de code,, en dat het eiwit alsnog aangemaakt. Er wordt dan een antibiotica ingespoten die zorgt voor het "overlezen" Dit werkt alleen bij specifieke mutaties die de aanmaak van een eiwit stopzetten.

Er zijn onderzoeksresultaten gepubliceerd voor Usher 1c,1g en 2a.

Ook bij deze methode is de efficiëntie niet altijd hoog, Er wordt bijvoorbeeld minder eiwit aangemaakt dan nodig is voor het goed functioneren van de cellen. En de stoffen die gebruikt worden kunnen behoorlijk toxisch (= giftig) zijn, dus dat is een niet gewenst neveneffect.

Gen-correctie

Hier gaat het om reparatie van een specifieke mutatie en is met name geschikt voor mutaties die frequent voorkomen. Twee methoden.

1,CRISPR/CAS: de mutatie wordt eruit geknipt, er wordt een goed stukje erin gezet, en de code wordt weer aan elkaar geplakt.

Onderzoeken bekend bij Usher 1c en 2A

Nadeel is dat deze methode heel mutatie-specifiek is. Voor elke mutatie moet je een andere therapie ontwikkelen. Voor het Ushersyndroom zijn er al meer dan 500 mutaties gevonden! De resultaten laten zien dat de efficiëntie bij deze methode bij Usher tot nu toe laag is, dus er worden te weinig van de benodigde eiwitten aangemaakt.

Een off-target effect kan zijn dat er ook veranderingen in een ander deel van het DNA ontstaan, en dat is niet de bedoeling.

2. Splice Modulatie: het corrigeren van het effect van de mutatie. Dit gebeurt door een exon in het gemuteerde gen uit de code te halen en met een soort "genetisch plakband" (AON) de vorige en volgende exon aan elkaar te verbinden.

Onderzoeken worden uitgevoerd bij Usher1c en 2A.

In Nijmegen is men ondermeer bezig met deze laatste methode met het exon 13 in het USH2A gen

Exon Skipping onderzoek in Nijmegen

In Nijmegen wordt in het Radboud verschillende onderzoek naar mogelijke gentherapie verricht. Dit onderzoek wordt mede mogelijk gemaakt door Stichting Ushersyndroom en SWODB.

In deze presentatie wordt ingezoomd op het onderzoek naar de exon-skipping methode bij het USH2A, exon 13. In dit onderzoek heeft men veelbelovende resultaten geboekt.

Als diermodel is gekozen voor de zebravis. Deze blijkt in zijn DNA-structuur het USH2A gen te hebben. En het is een beter geschikt model dan de muis, omdat de anatomie van de fotoreceptoren (de lichtgevoelige cellen die bij het Ushersyndroom afsterven) veel op die van de mens lijkt.

De methode om een goed USH2A gen toe te voegen was geen optie. Het USH2A gen is te groot om in een Lenti virus te verpakken, zoals bij het vergevorderd onderzoek naar gen-
vervanging bij Usher 1b

Het exon 13 in het USH2A gen blijkt 2 founder mutaties te bevatten. Dat zijn mutaties die van een vroege voorouder stammen.

Bovendien gaat het om specifieke stop-mutaties: de mutatie zorgt ervoor dat het eiwit niet aangemaakt wordt.

Door het exon 13 eruit te halen (= exon skipping) en exon 12 en 14 met elkaar te plakken, wordt de code voor het aanmaken van het eiwit korter gemaakt.

De vraag was of door het eruit halen van 1 deeltje in de code, de code nog wel gelezen kan worden. Het USH2A gen is zo groot, zou het een stukje kunnen missen en dan toch functioneel zijn?

Bij de zebravis bleek dit inderdaad het geval. Bij zebravissen werd eerst de mutatie in het USH2A gen aangebracht, waardoor dit gen niet meer functioneerde. Deze vissen bleken een verlies in zicht te tonen op het ERG.

Na de exon skipping bleek dat het het USH2A gen weer werkte (expressie van het USH2A gen op de juiste plek) en dat de visus verbeterd was.

Een belangrijke kanttekening hierbij is dat bij zebravissen het zicht terugkeerde. Dit heeft te maken met het herstellend vermogen van de vis. De mens heeft dit regenererend vermogen niet wat de fotoreceptoren betreft.

Wanneer deze gentherapie geschikt is voor mensen, dan zal het resultaat naar verwachting zijn dat het proces van slechter zien stopgezet wordt.

Bovendien zal herhaling van de therapie nodig zijn om dit effect in stand te houden. Het gebruikte genetisch plakband sterft na een tijdje af. Het zal waarschijnlijk direct in het oog ingespoten worden.

Hoe gaat het nu verder?

Vorig jaar is een contract gesloten met de farmaceut ProQR om deze onderzoeksresultaten verder te gaan gebruiken in het ontwikkelen van een RNA therapie,

Een volgende stap is om van diermodellen gebruik te maken van menselijke cellen. Uit huidbiopten van patiënten kunnen stamcellen gehaald worden. Deze stamcellen kunnen opgekweekt worden tot fotoreceptoren zoals die op het netvlies voorkomen, en tot haarcellen, die in het binnenoor voorkomen.

Dezelfde onderzoeksmethoden als bij de zebravissen zal dan ingezet worden. Gekeken zal worden of het mogelijk is om exon 13 uit het gen te "halen" en of dit leidt tot een goed functionerend USH2A gen. Belangrijk is ook om te kijken of er geen ongewenste bijeffecten optreden en of deze therapie veilig is om toe te passen op patiënten

De volgende fase zou dan een klinische trial zijn met patiënten.

Mocht het komen tot een werkende therapie, dan zal de kosten voor deze therapie een belangrijk onderhandelingspunt worden tussen de farmaceut, verzekering en andere betrokken instanties, Voor patiënten is het in hun belang om de kosten zo laag mogelijk te houden.