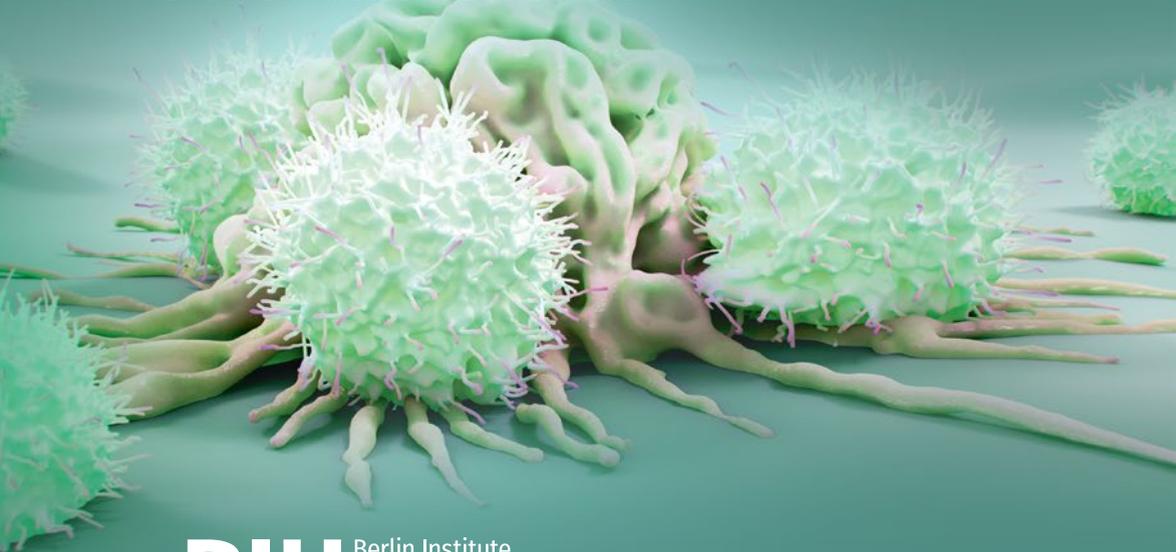


Boris Fehse · Hannah Schickl
Sina Bartfeld · Martin Zenke *Hrsg.*

Gen- und Zelltherapie 2.023

AG Gentechnologiebericht
mit freundlicher Unterstützung der
DG-GT und des GSCN



iBIH Berlin Institute
of Health
@Charité

OPEN ACCESS

 Springer

Gen- und Zelltherapie 2.023 – Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft

Boris Fehse • Hannah Schickl
Sina Bartfeld • Martin Zenke
Hrsg.

Gen- und Zelltherapie 2.023 – Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft

AG Gentechnologiebericht mit
freundlicher Unterstützung
der DG-GT und des GSCN

Mit einem Geleitwort von Christopher Baum

 Springer

Hrsg.

Boris Fehse
Forschungsabteilung Zell- und Gentherapie
Klinik für Stammzelltransplantation
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Hamburg, Deutschland

Hannah Schickl
Berlin Institute of Health at Charité (BIH)
Berlin, Deutschland

Martin Zenke
Medizinische Klinik IV
Universitätsklinikum Aachen
Aachen, Deutschland

Sina Bartfeld
Institut für Medizinische Biotechnologie
Technische Universität Berlin
Berlin, Deutschland



ISBN 978-3-662-67907-4 ISBN 978-3-662-67908-1 (eBook)
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-67908-1>

Dieses Buch ist eine Open-Access-Publikation.

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <https://portal.dnb.de> abrufbar.

© Der/die Herausgeber bzw. der/die Autor(en) 2024

Open Access Dieses Buch wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Buch enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Die Wiedergabe von allgemein beschreibenden Bezeichnungen, Marken, Unternehmensnamen etc. in diesem Werk bedeutet nicht, dass diese frei durch jedermann benutzt werden dürfen. Die Berechtigung zur Benutzung unterliegt, auch ohne gesonderten Hinweis hierzu, den Regeln des Markenrechts. Die Rechte des jeweiligen Zeicheninhabers sind zu beachten.

Der Verlag, die Autoren und die Herausgeber gehen davon aus, dass die Angaben und Informationen in diesem Werk zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vollständig und korrekt sind. Weder der Verlag noch die Autoren oder die Herausgeber übernehmen, ausdrücklich oder implizit, Gewähr für den Inhalt des Werkes, etwaige Fehler oder Äußerungen. Der Verlag bleibt im Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutionsadressen neutral.

Einbandabbildung: © selvanegra / Getty Images / iStock

Planung/Lektorat: Stefanie Wolf

Springer ist ein Imprint der eingetragenen Gesellschaft Springer-Verlag GmbH, DE und ist ein Teil von Springer Nature.

Die Anschrift der Gesellschaft ist: Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany

Das Papier dieses Produkts ist recyclebar.

Ferdinand Hucho – in ehrendem Gedenken

Geleitwort von Christopher Baum

Die AG *Gentechnologiebericht*, unter Federführung von Boris Fehse sowie Hannah Schickl, Sina Bartfeld und Martin Zenke als Herausgeber*innen, legt mit diesem Themenband eine detailreiche, spannende und umfassende Expertise zum Status und den Entwicklungsperspektiven von Gen- und Zelltherapien vor.

Dieses Werk kommt wie gerufen. Das Feld der Gen- und Zelltherapien befindet sich in der Phase der technologischen Konsolidierung und erschließt eine zunehmende Zahl konkreter Therapieoptionen für Menschen mit seltenen und komplexen Erkrankungen. Enge Kooperationen von Akademie, Startup-Firmen und etablierter Pharmaindustrie füllen die Entwicklungspipelines mit zahlreichen neuen Applikationen. Präklinische Modelle und frühe Phasen klinischer Studien deuten therapeutische Optionen auch für Erkrankungen an, die mit anderen Modalitäten kaum behandelbar sind. Zugleich sind noch viele Fragen offen, zum einen zu Langzeitfolgen, Wechselwirkungen mit anderen Therapiemaßnahmen, Auswirkungen auf das Immunsystem und Grenzziehungen zwischen Therapie und Enhancement zum anderen zu somatischem und Keimbahngentransfer. Neben den biomedizinischen Aspekten bleiben übergeordnete Fragen von Ethik und Recht hochgradig relevant bis hin zum Selbstverständnis von Individuen und der (un)gewollten Metaphorik genetischer sowie genombasierter Therapieansätze. Schließlich wird im vorliegenden Kompendium auch das wichtige Thema der Nachhaltigkeit und Finanzierbarkeit reflektiert.

Mit Unterstützung der Deutschen Gesellschaft für Gentherapie e. V. (DG-GT), des German Stem Cell Network (GSCN) und des Berlin Institute of Health at Charité (BIH) schafft die AG *Gentechnologiebericht* damit einen enorm wichtigen Beitrag zur umfassenden Reflexion des Status quo und der wichtigsten Perspektiven der Gen- und Zelltherapien. Parallel wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) die Formulierung einer Nationalen Strategie für Gen- und Zelltherapien angestoßen, die bis Mitte 2024 vorliegen soll und vom BIH koordiniert wird. Der vorliegende Themenband liefert eine hochaktuelle und beispielhaft interdisziplinäre, multiperspektivische Analyse und leistet damit auch einen essenziellen Beitrag zur übergeordneten Strategiebildung.

Ich danke allen Beteiligten herzlich und wünsche allen Interessierten eine aufschlussreiche Lektüre!

Vorwort

Totgesagte leben länger?! Nachdem die Gentherapie seit Ende der 1990er-Jahre, nur 10 Jahre nach ihrem vielumjubelten Start, von scheinbarer Stagnation geprägt war und vielen als „verbrannte Erde“ galt, wurden wir in den letzten Jahren Zeugen einer rasanten Entwicklung sowohl im Bereich der zellulären wie auch der vektorbasierten Gentherapien. Medizinischen Durchbrüchen bei einigen zuvor unheilbaren Krankheiten – nicht nur in Einzelfällen, sondern auch in großen kontrollierten klinischen Studien – folgten erste Zulassungen und der breite (Wieder-)Einstieg der großen Pharmaunternehmen. Für viele schwerstkranke Patientinnen und Patienten wurden Gen- und Zelltherapien zu Hoffnungsträgern für die Behandlung ihrer angeborenen oder erworbenen Erkrankungen.

Zelltherapien können auf eine deutlich längere Geschichte als die Gentherapie zurückblicken – nachdem die ersten Knochenmarktransplantationen bereits in den 1950er-Jahren durchgeführt wurden, ist die (Blut-)Stammzelltransplantation schon seit Jahrzehnten eine etablierte Therapieform für unterschiedliche Erkrankungen des blutbildenden Systems, von Blutkrebs bis hin zu genetisch bedingten Blutbildungsstörungen. Die Entwicklung neuer Technologien wie der induzierten pluripotenten Stammzellen brachte aber auch in diesem Gebiet im letzten Jahrzehnt einen deutlichen Entwicklungsschub.

Trotz vieler Gemeinsamkeiten wurden Zell- und Gentherapien für viele Jahre getrennt voneinander behandelt – es gab separate Fachgesellschaften, Journale und Kongresse. Dabei sind bei vielen Gentherapien genetisch modifizierte Zellen das Arzneimittel; und umgekehrt werden viele Zelltherapien durch genetische Modifikation der Zellen verbessert, oder sogar erst möglich. Regulatorisch werden beide Therapieansätze schon seit Längerem unter einem Dach zusammengefasst – als neuartige Therapien bzw. „Advanced Therapy Medicinal Products“ (ATMP). Daher ist es nur folgerichtig, sie auch gemeinsam in diesem Buch zu behandeln.

Dass die Themen Gen- und Zelltherapie auch aus gesellschaftlicher und politischer Sicht hochaktuell sind, steht außer Frage – sind doch in den letzten Jahren in Deutschland eine ganze Reihe ATMP in der Regelversorgung angekommen. Die bekanntesten Beispiele sind sicher die CAR-T-Zelltherapien, die hohe Heilungsraten bei bestimmten Blutkrebsformen selbst in fortgeschrittenen Krankheitsstadien ermöglichen, und (die „2-Millionen-€-Spritze“) Zolgensma®, das bei der Behandlung einer bestimmten Form von Muskelschwund Erfolge zeitigt. Noch beschränken sich die beeindruckenden klinischen Erfolge auf einige wenige Krankheiten, aber schon

heute finden Hunderte klinischer Studien zu möglichen weiteren Indikationen statt – und in Labors rund um die Welt wird nach neuen gen- und zellbasierten Heilungskonzepten gesucht.

Seit Jahrzehnten haben auch deutsche Forscherinnen und Forscher entscheidende Beiträge zur Entwicklung gen- und zelltherapeutischer Konzepte geliefert. Trotz dieser weltweit anerkannten führenden Stellung im Bereich der präklinischen Forschung, finden in Deutschland im internationalen Vergleich nur wenige klinische Studien mit ATMP statt. Auf diesen „translation gap“, den fehlenden bzw. langsamen Übergang erfolgreicher Konzepte aus dem Labor in die Klinik, ist jetzt auch die Politik aufmerksam geworden. Der Deutsche Bundestag hat daher Ende 2022 eine Translationsinitiative beschlossen, um hier schnellstmöglich Abhilfe zu schaffen. Die darauf basierende „Nationale Strategie Gen- und Zelltherapie“ soll aber nicht nur die translationale und klinische Forschung stärken, sondern sich zugleich vielen weiteren Aspekten auf den Gebieten der Gen- und Zelltherapie widmen. Diese umfassen sowohl praktische Fragen der Anwendung (z. B. die Frage fehlender Herstellungskapazitäten für ATMP) wie auch ethische Herausforderungen (z. B. die in einigen Fällen extrem hohen Kosten bereits zugelassener ATMP und die Sicherung eines unbeschränkten Zugangs für alle Bedürftigen). Unbedingt sollen auch gesellschaftliche Organisationen und Patientenverbände in die Diskussionen und die Entscheidungsfindung einbezogen werden.

Die Arbeitsgruppe „Gentechnologiebericht – Monitoring und interdisziplinärer Dialog“ verfolgt seit ihrer Gründung das Ziel, breit und verständlich über neue Gentechnologien zu informieren und so einen sachkundigen Diskurs zwischen Wissenschaft, Gesellschaft und Politik zu fördern. Auch der vorliegende Themenband zu Gen- und Zelltherapien soll diesem Ziel dienen. Er bietet einen Überblick zum aktuellen Stand der Forschung und klinischen Anwendung von Gen- und Zelltherapien mit speziellem Blick auf Deutschland. Der Band richtet sich an interessierte Laien und Stakeholder und ist von Expertinnen und Experten auf ihrem jeweiligen Forschungsgebiet verfasst. Es wird eingegangen auf die Technologieentwicklung und Translation, die Verwendung unterschiedlicher Vektoren, Stammzellen und Organoide, Genome-Editing und neue Therapien z. B. mit CAR-T-Zellen wie auch lang etablierte wie die Blutstammzelltransplantation. Zugleich werden rechtliche und regulatorische Rahmenbedingungen beleuchtet, ethische Fragestellungen u. a. zu Keimbahninterventionen, Enhancement und Therapiekosten kritisch diskutiert sowie Handlungsempfehlungen an die Politik gegeben.

Die AG *Gentechnologiebericht* ist interdisziplinär zusammengesetzt aus Natur-, Geistes- und Sozialwissenschaftlerinnen und -wissenschaftlern. Sie arbeitet die unterschiedlichen Anwendungen der Gentechnologien sorgfältig auf und behält deren Entwicklungen langfristig im Blick. Die regelmäßig erscheinenden Veröffentlichungen zu spezifischen Themen richten sich überwiegend an eine breite Öffentlichkeit. Bei dem vorliegenden Themenband sind wir der Deutschen Gesellschaft für Gentherapie (DG-GT) und dem German Stem Cell Network (GSCN) für die hochgeschätzte Kooperation sowie den zahlreichen Autorinnen und Autoren für ihre wertvollen Beiträge zu großem Dank verpflichtet.

Die namentlich gekennzeichneten Beiträge geben nicht unbedingt die Meinung der Herausgeber, der Arbeitsgruppe oder des BIH wieder – diese stehen jedoch hinter der Qualität der geleisteten Arbeit.

Herzlich danken möchte ich allen Mitwirkenden an dieser Publikation, insbesondere meinen Mitherausgeberinnen Hannah Schickl und Sina Bartfeld und meinem Mitherausgeber Martin Zenke für ihre Mitwirkung sowie den Autorinnen und Autoren für ihre Beteiligung, der Geschäftsstelle für die Umsetzung des Projekts und Springer für die gute Zusammenarbeit bei der Publikation.

Wir sind dem BIH sehr dankbar für die Unterstützung unseres Projektes und freuen uns auf die weitere Zusammenarbeit.

Hamburg, Deutschland
Juli 2023

Boris Fehse

Inhaltsverzeichnis

1	Handlungsempfehlungen zur somatischen Genterapie, Keimbahninterventionen und Zelltherapie	1
	Boris Fehse, Jörn Walter, Sina Bartfeld, Stephan Clemens, Tobias Erb, Heiner Fangerau, Jürgen Hampel, Martin Korte, Ralf Müller-Terpitz, Stefan Mundlos, Jens Reich, Silke Schicktanzen, Eva C. Winkler und Martin Zenke	
	1.1 Genterapieforschung	1
	1.2 Klinische Translation	3
	1.3 Zulassungsstudien und lizenzierte Genterapien	4
	1.4 Keimbahninterventionen	6
	1.5 Ungeprüfte Stammzelltherapien	7
	1.6 Organoide in der Zell- und Genterapie	8
2	Einleitung: Gen- und Zelltherapie – „zwei Seiten zweier Medaillen“	11
	Boris Fehse	
	2.1 Gen- und Zelltherapie 2.023	11
	2.2 Genterapie	13
	2.3 Zelltherapie	17
	Literatur	20

Teil I Vektoren und Technologieentwicklung

3	Retrovirale Vektoren – Effiziente Gentaxis für unterschiedliche Genterapien	25
	Michael A. Morgan, Melanie Galla, Boris Fehse und Axel Schambach	
	3.1 Einleitung	25
	3.2 Die Entwicklung der retroviralen Vektortechnologie: Eine Chronologie	27
	3.3 Der gesteuerte Zelleintritt ist ein Schlüssel zum zielgerichteten Gentransfer: die Pseudotypisierung von Vektoren	30
	3.4 Stabile therapeutische Genexpression durch Integration ins Zellgenom	31

3.5	Die Gentherapie für monogene Erbkrankheiten	33
3.6	Gentherapie für erworbene Krankheiten	38
3.7	Ausblick: Retrovirale Gentherapie.	43
	Literatur.	44
4	AAV-Vektoren – die imposante Karriere eines Parvovirus.	51
	Nico Martin Jäschke und Hildegard Büning	
4.1	Adeno-assoziierte Viren – ein „Leben“ im Verborgenen	51
4.2	Die Verwandlung in einen Vektor	55
4.3	AAV-Vektoren im Dienst der Gentherapie.	57
4.4	AAV-Vektoren 2.0	66
	Literatur.	69
5	<i>Sleeping Beauty</i>: Ein „springendes Gen“ für Anwendungen in der Gentechnik	73
	Wasifa Nurieva, Nicolás Sandoval-Villegas und Zoltán Ivics	
5.1	Einleitung.	73
5.2	Mechanismen der Transposition und wie sie für den Einbau von Genen in Genome angepasst werden können	74
5.3	Das Sleeping-Beauty-Transposonsystem.	76
5.4	Anwendungen in der Grundlagenforschung	79
5.5	Präklinische Anwendungen	80
5.6	Klinische Anwendungen	81
5.7	Schlussfolgerungen und Ausblick	83
	Literatur.	83
6	Nichtvirale Vektoren	87
	Achim Aigner	
6.1	Einleitung.	87
6.2	Nichtvirale Vektoren: generelle Anforderungen und Eigenschaften	92
6.3	Lipidbasierte Nanocarrier	94
6.4	Polymerbasierte Nanocarrier	95
6.5	Anorganische Nanocarrier	98
6.6	Schlussbemerkungen	100
	Literatur.	101
7	Genome-Editing – Gentherapie 2.0 oder nur eine Wunschvorstellung?	103
	Boris Fehse, Julian Grünewald und Karl Petri	
7.1	Entwicklung des Genome-Editing.	103
7.2	Genome-Editing 2.0.	110
7.3	Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden im Hinblick auf eine klinische Anwendung.	112
7.4	Klinische Anwendung des Genome-Editing	114
7.5	Schluss	118
	Literatur.	118

Teil II Translation und klinische Anwendung

8	Technologien und Lösungsansätze für die effiziente Herstellung von Zelltherapeutika für die CAR-Immuntherapie	123
	Ulrich Blache, Kati Kebbel, Andrea Quaiser, Georg Popp, Paul Franz, Anna Dünkel, Martin Thoma, Niels König, Uwe Platzbecker, Gerno Schmiedeknecht, Stephan Fricke und Ulrike Köhl	
8.1	Einleitung	123
8.2	Wachsender Bedarf an autologen CAR-T-Zellen	124
8.3	Allogene CAR-Effektorzellen als Off-the-Shelf-Produkte	128
8.4	Automatisierte Herstellung zur Verbesserung der Verfügbarkeit von CAR-Immuntherapien	129
8.5	Qualitätskontrollen und Digitalisierungstechnologien für die automatisierte Herstellung	131
8.6	Ausblick	133
	Literatur	134
9	Spotlight: Die Regulation von Arzneimitteln für neuartige Therapien (ATMP) – Rahmen und Unterstützung für die Entwicklung sicherer und wirksamer ATMP	139
	Jürgen Scherer und André Berger	
9.1	Einleitung	139
9.2	Die Entwicklung von ATMP ist herausfordernd	140
9.3	Prüfung und Zulassung von ATMP durch die Arzneimittelbehörden	141
9.4	Verfügbarkeit von ATMP	142
9.5	Genehmigung klinischer Prüfungen mit ATMP	143
9.6	Beratungsangebote zur Unterstützung der Entwicklungsarbeiten	144
9.7	Ausblick	145
10	Immuntherapie mit CAR-T-Zellen: der Durchbruch in der Krebsbehandlung	147
	Dennis Christoph Harrer und Hinrich Abken	
10.1	Einleitung: Immunzellen können Krebserkrankungen zurückdrängen	147
10.2	Eine neue Ära in der Immuntherapie: genetisch modifizierte Immunzellen	148
10.3	Die Evolution der zellulären Immuntherapie geht weiter: synthetische Rezeptoren	148
10.4	CAR-T-Zellen werden lebende Fabriken: Produktion von Pharmazeutika im Patienten	151
10.5	Die Herstellung von CAR-T-Zellen als patientenindividualisierter Prozess	152
10.6	Genomeditierte allogene CAR-T-Zellen	154

10.7	Klinische Erfolge und erste pharmazeutisch zugelassene CAR-T-Zellprodukte	155
10.8	Fazit	157
	Literatur	158
11	Hämatopoetische Stammzelltransplantation: seit Jahrzehnten etablierte Zelltherapie	161
	Hans-Jochem Kolb und Boris Fehse	
11.1	Entwicklung der Stammzelltransplantation	161
11.2	Wo finden sich Blutstammzellen?	163
11.3	Autologe Transplantation	165
11.4	Allogene Transplantation	167
11.5	Welche Stammzellen und welche Spender sind am besten?	171
11.6	Posttransplantationstherapien	173
11.7	Spätfolgen und Langzeitergebnisse	176
	Literatur	177
12	Organoide in der Zelltherapie	183
	Sina Bartfeld	
12.1	Einleitung	183
12.2	Organoide in der Zelltherapie	187
12.3	Biomaterialien	194
12.4	Genetische Modifikation von Organoiden	195
12.5	Zusammenfassung und Ausblick	195
	Literatur	196
13	Zelltypen aus menschlichen pluripotenten Zellen und deren Anwendung in Zelltherapien	199
	Wolfram-Hubertus Zimmermann, Marius Ader, Daniel Besser, Romy Kronstein-Wiedemann, Heiko Lickert, Elke Schlüssel, Jessica Thiel und Torsten Tonn	
13.1	Einleitung	199
13.2	Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) aus pluripotenten Stammzellen	201
13.3	Pankreatische β -Zellen aus pluripotenten Stammzellen zur Behandlung von Diabetes	203
13.4	Blutzellen aus pluripotenten Stammzellen	205
13.5	Retinales Pigmentepithel aus pluripotenten Stammzellen zur Behandlung retinaler Degenerationen	207
13.6	Dopaminerge Neuronen aus pluripotenten Stammzellen zur Behandlung von Parkinson	210
13.7	Herstellung GMP-konformer Zelltypen aus pluripotenten Stammzellen	212
13.8	Ausblick	213
	Literatur	214

14	Therapien zum Zellersatz mit adulten Stammzelltypen	217
	Daniel Besser, Halvard B. Bönig, Bernd Giebel, Hannes Klump und Simone Spuler	
14.1	Einleitung	217
14.2	Hämatopoetische Stammzellen zur Behandlung von genetischen Erkrankungen und zum Immunreset bei Autoimmunerkrankungen	218
14.3	Therapeutischer Einsatz von mesenchymalen stromalen Zellen	223
14.4	Zellersatz bei Hautverletzungen und -erkrankungen, Hornhautverletzungen und Haarersatz	225
14.5	Genetisch modifizierte Satellitenzellen der Muskeln zur Behandlung von Muskeldystrophien	227
14.6	Extrazelluläre Vesikel (Exosomen) von Stammzellen in der therapeutischen Anwendung	228
14.7	Ausblick	230
	Literatur	230
15	Spotlight: Ungeprüfte Stammzelltherapien	233
	Martin Zenke	
15.1	Einleitung	233
15.2	Ungeprüfte Stammzelltherapien – ein komplexes und internationales Problem	234
15.3	Maßnahmen: Informationen und Aufklärung	235
	Literatur	237
16	Gentherapie aus der Sicht eines forschenden Arzneimittelunternehmens	239
	André Cohnen, Laura Hoffmeister und Anke M. Schulte	
16.1	Bisherige Therapieformen (z. B. SMOL und BMOL) im Vergleich zu Zell- und Gentherapie: Ein kurzer Überblick	239
16.2	Zelltherapie (ZT): kurzer Überblick	240
16.3	Gentherapie (GT)	241
16.4	Die Grenzen der Gentherapie	242
16.5	RNA-Therapien und Geneditierung	243
16.6	Sicherheit in der Gentherapie: Kriterien zur Auswahl von Therapieansätzen	245
16.7	Einstiegstrategien für Pharmaunternehmen bei der Entwicklung neuartiger Therapien	245
16.8	Zugelassene In-vivo-Gentherapien und Ausblick	246
16.9	Ethische Aspekte aus Sicht eines Pharmaunternehmens	248
	Literatur	249

Teil III Ethik, Recht und Gesellschaft

17	Rechtlicher Rahmen und rechtliche Hürden für Zell- und Gentherapien in Deutschland	255
	Ralf Müller-Terpitz	
	17.1 Rechtlicher Rahmen	255
	17.2 Rechtliche Hürden und Problembereiche	258
	Literatur	264
18	Zum ethischen Paradigmenwechsel in der Debatte um (erbliches) Genome-Editing an Embryonen in vitro	267
	Hannah Schickl	
	18.1 Einleitung: Die Debatte um Keimbahninterventionen	267
	18.2 Ethische Argumente	270
	18.3 Konklusion	278
	Literatur	280
19	Spotlight: Zu den Grenzen der Medizin und dem „Human Enhancement“	283
	Heiner Fangerau	
	19.1 Grenzen der Medizin	283
	19.2 Optimierung und Human Enhancement	285
	19.3 Schluss	287
	Literatur	288
20	Gentherapie und Genome-Editing im Blickpunkt internationaler Einstellungsforschung	291
	Jürgen Hampel	
	20.1 Einleitung	291
	20.2 Theoretische und methodische Vorbemerkungen	292
	20.3 Einstellungen zur Gentherapie	294
	20.4 Fazit	303
	Literatur	304
21	Spotlight: Die Metaphernwelt der Molekularbiologie und molekularen Medizin	307
	Hans-Jörg Rheinberger	
	21.1 Ein Blick auf Metaphern in der Molekularbiologie	307
	21.2 Grundsätzliches zu Metaphern in der Wissenschaft	308
	21.3 Metaphern in der Wissenschaftskommunikation	309
	21.4 Die Metaphernwelt von CRISPR/Cas, eine kritische Analyse	311
	Literatur	314

22	Dürfen Gentherapien so viel kosten? Ethische Bewertung der hohen Preise und des performanceorientierten Erstattungsmodells	317
	Karla Alex und Julia König	
22.1	Struktur des Kapitels	317
22.2	Wie kommen die Preise zustande?	318
22.3	Wie können die Preise bezahlt werden? Beispiel P4P für CAR-T-Zelltherapie	323
22.4	Wie sind die hohen Preise und wie ist P4P ethisch zu bewerten?	325
22.5	Fazit	335
	Literatur	336

Herausgeber- und Autorenverzeichnis

Prof. Dr. Hinrich Abken Professor und Lehrstuhlinhaber für Gen-Immuntherapie an der Universität Regensburg; Leiter der Abteilung Gen-Immuntherapie und Direktor am Leibniz-Institut für Immuntherapie, Regensburg.

Prof. Dr. Marius Ader Professor für Zellersatz in der Retina von Säugetieren am Center für Regenerative Therapien Dresden (CRTD) und Center für Molekulares und Zelluläres Bioengineering (CMCB) der Technischen Universität Dresden.

Prof. Dr. Achim Aigner Professor für Klinische Pharmakologie an der Universität Leipzig und Leiter der Selbstständigen Abteilung Klinische Pharmakologie am Rudolf-Boehm-Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Leipzig.

Karla Alex Wissenschaftliche Staatsprüfung für das Lehramt an Gymnasien (Philosophie, Germanistik) Akademische Mitarbeiterin in der Sektion Translationale Medizinethik am Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen (NCT) Heidelberg, Universität Heidelberg, Medizinische Fakultät (Universitätsklinikum) im Projekt „Genomic NEWborn screening programs – Legal Implications, Value, Ethics and Society“ (NEW_LIVES, BMBF 01GP2201A, TP1 Ethische, gesellschaftliche, genetische und medizinische Rahmenbedingungen).

Prof. Dr. Sina Bartfeld Professorin für Medizinische Biotechnologie an der Technischen Universität Berlin; Der Simulierte Mensch, www.Si-M.org; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. Dr. Christopher Baum Vorsitzender des Direktoriums des Berlin Institute of Health at Charité (BIH) und Vorstand Translationsforschungsbereich der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Dr. André Berger Leiter des Innovationsbüros und Referent für Grundsatzfragen, Verfahrenssteuerung des Paul-Ehrlich-Instituts, Langen.

Dr. Daniel Besser Geschäftsführer des German Stem Cell Network (GSCN); Leiter der Dialogplattform Stammzellforschung am Berlin Institute of Health (BIH) in der Charité, Berlin.

Dr. Ulrich Blache Arbeitsgruppenleiter am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

Prof. Dr. Halvard B. Bönig M. A. Professor für Translationale Entwicklung von Zelltherapeutika, Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Goethe Universität, Frankfurt am Main; Affiliate Professor of Medicine/Hematology an der University of Washington, Seattle, WA, und Visiting Professor in Transfusion Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slowenien.

Prof. Dr. Hildegard Büning Stellvertretende Direktorin des Instituts für Experimentelle Hämatologie an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH); Professorin für Infektionsbiologie des Gentransfers an der MHH. Wissenschaftliche Sekretärin der Deutschen Gesellschaft für Genterapie (DG-GT e.V.).

Prof. Dr. Stephan Clemens Professor für Pflanzenphysiologie und Gründungsdekan der Fakultät für Lebenswissenschaften: Lebensmittel, Ernährung und Gesundheit, Universität Bayreuth; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Dr. André Cohnen Leiter der Abteilung Genomic Medicine der Bayer AG, Wuppertal.

Dr. Anna Dünkel Arbeitsgruppenleiterin GMP Prozessentwicklung am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

Prof. Dr. Tobias Erb Direktor des Max-Planck-Instituts für terrestrische Mikrobiologie, Marburg; Professor für Mikrobiologie an der Philipps-Universität Marburg; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. Dr. Dr. h. c. Heiner Fangerau Direktor und Lehrstuhlinhaber des Instituts für Geschichte, Theorie und Ethik der Medizin, Centre Health and Society, Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. Dr. Boris Fehse Leiter der Forschungsabteilung Zell- und Genterapie, Laborleiter, Klinik für Stammzelltransplantation, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf; Sprecher der AG *Gentechnologiebericht*.

Dr. Paul Franz Arbeitsgruppenleiter GMP Prozessentwicklung am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

PD Dr. Stephan Fricke Leiter der Abteilung Zell- und Genterapieentwicklung am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig; Oberarzt der Klinik für Innere Medizin III Hämatologie, Onkologie, Zelltherapie der Klinikum Chemnitz gGmbH.

Dr. Melanie Galla Akademische Mitarbeiterin am Institut für Experimentelle Hämatologie und REBIRTH Research Center for Translational Regenerative Medicine an der Medizinischen Hochschule Hannover.

Prof. Dr. Bernd Giebel Professor für Translationale Extrazelluläre Vesikelforschung am Institut für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Essen, Universität Duisburg-Essen.

Prof. Dr. Julian Grünewald Professor für Geneditierung an der Technischen Universität München und an der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums rechts der Isar.

Dr. Jürgen Hampel Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Technik- und Umweltsoziologie am Institut für Sozialwissenschaften und am Zentrum für interdisziplinäre Risiko- und Innovationsforschung (ZIRIUS), Universität Stuttgart; Mitglied der Society for Risk Analysis der European Federation of Biotechnology; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Dr. Dennis Christoph Harrer Assistenzarzt an der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin III – Hämatologie und Internistische Onkologie, Universitätsklinikum Regensburg; Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Gen-Immuntherapie, Leibniz Institut für Immuntherapie, Regensburg.

Dr. Laura Hoffmeister Programmleiterin Scientific Affairs der Bayer AG, Leverkusen.

Prof. Dr. Zoltán Ivics Leiter des Forschungszentrums der Abteilung Hämatologie, Gen- und Zelltherapie, Paul-Ehrlich-Institut, Langen.

Dr. Nico Martin Jäschke Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Experimentelle Hämatologie an der Medizinischen Hochschule Hannover.

Dipl.-Ing. Kati Kebbel Leiterin der Abteilung GMP Zell- und Gentherapie am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

Prof. Dr. Hannes Klump Lehrstuhlinhaber und Direktor des Instituts für Transfusionsmedizin und Zelltherapeutika an der Universitätsklinik RWTH Aachen.

Prof. Dr. Dr. Ulrike Köhl Professorin und Direktorin des Instituts für Klinische Immunologie an der Universität und dem Universitätsklinikum Leipzig; Leiterin des Fraunhofer-Instituts für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig; Mitglied der Akademie der Wissenschaften zu Leipzig.

Dr. Julia König MAE Ärztin und wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Klinik für Medizinische Onkologie, Universitätsklinikum Heidelberg, Medizinische Fakultät, Universität Heidelberg, und dem Nationalem Centrum für Tumorerkrankungen, Heidelberg in der Sektion Translationale Medizinethik.

Dipl.-Phys. Niels König Leiter der Abteilung Produktionsmesstechnik am Fraunhofer-Institut für Produktionstechnologie IPT, Aachen; Lehrbeauftragter des Lehrstuhls für Fertigungsmesstechnik und Qualitätsmanagement der RWTH Aachen.

Prof. em. Dr. Hans-Jochem Kolb Emeritierter Professor der Universität München; Senior Consultant an der 3. Medizinischen Klinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München; Geschäftsführer der Kolb Consulting UG, München.

Prof. Dr. Martin Korte Leiter des Zoologischen Instituts und Professor für Zelluläre Neurobiologie an der Technischen Universität Braunschweig; Leiter der Forschungsgruppe für Neuroinflammation und Neurodegeneration am Helmholtz-Institut für Infektionsforschung Braunschweig; Mitglied der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Dr. Romy Kronstein-Wiedemann Leiterin der Abteilung Experimentelle Transfusionsmedizin, Institut für Transfusionsmedizin, DRK Blutspendedienst Nord-Ost gGmbH.

Prof. Dr. Heiko Lickert Direktor des Instituts für Diabetes und Regenerationsforschung (IDR) am Helmholtz Zentrum München; W3-Professor und Leiter Beta Zellbiologie, Medizinische Fakultät, Technische Universität München (TUM).

Prof. Dr. Michael A. Morgan Professor und akademischer Mitarbeiter am Institut für Experimentelle Hämatologie und am REBIRTH Research Center for Translational Regenerative Medicine an der Medizinischen Hochschule Hannover.

Prof. Dr. Ralf Müller-Terpitz Direktor des Instituts für Deutsches, Europäisches und Internationales Medizinrecht, Gesundheitsrecht und Bioethik der Universitäten Heidelberg und Mannheim; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. Dr. Stefan Mundlos Professor für Medizinische Genetik und Direktor des Instituts für Medizinische Genetik und Humangenetik an der Charité, Berlin; externes wissenschaftliches Mitglied und Gruppenleiter der Forschungsgruppe Entwicklung und Krankheit am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Wasifa Nurieva M. Sc. Wissenschaftliche Mitarbeiterin und Doktorandin der Abteilung Hämatologie, Gen- und Zelltherapie des Paul-Ehrlich-Instituts, Langen.

Dr. Karl Petri Arbeitsgruppenleiter in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II am Lehrstuhl für Zelluläre Immuntherapie, Universitätsklinikum Würzburg.

Prof. Dr. Uwe Platzbecker Direktor und Universitätsprofessor der Klinik und Poliklinik für Hämatologie, Zelltherapie, Hämostaseologie und Infektiologie, Early Clinical Trials, Universität Leipzig.

Georg Popp M. Sc. Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

Andrea Quaiser Fachreferentin Immunonkologie am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

Prof. em. Dr. Jens Reich Emeritierter Professor für Molekularbiologie am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin und an der Humboldt-Universität zu Berlin; Mitglied der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. em. Dr. Dr. h. c. Hans-Jörg Rheinberger Emeritiertes wissenschaftliches Mitglied und ehemaliger Direktor am Max-Planck-Institut für Wissenschaftsgeschichte, Berlin; Mitglied der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften; Mitglied der Leopoldina.

Nicolás Sandoval-Villegas M. Sc. Wissenschaftlicher Mitarbeiter und Doktorand der Abteilung Hämatologie, Gen- und Zelltherapie des Paul-Ehrlich-Instituts, Langen.

Prof. Dr. med. Axel Schambach, PhD Direktor des Instituts für Experimentelle Hämatologie an der Medizinischen Hochschule Hannover; REBIRTH Research Center for Translational Regenerative Medicine; Lecturer/Fakultätsmitglied in der Division of Hematology/Oncology, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School.

Dr. Jürgen Scherer Leiter des Fachgebietes HZG 1: Bewertung Klinik Hämatologie, Zell- und Genterapie, Paul-Ehrlich-Institut, Langen.

Hannah Schickl 1. Staatsexamen Wissenschaftliche Mitarbeiterin und Koordinatorin der AG *Gentechnologiebericht* am Berlin Institute of Health (BIH) in der Charité, Berlin.

Prof. Dr. Silke Schicktanz Professorin für Kultur und Ethik der Biomedizin sowie stellvertretende Direktorin des Instituts für Ethik und Geschichte der Medizin, Universitätsmedizin Göttingen; Präsidentin der Akademie für Ethik in der Medizin; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Dr. Elke Schlüssel Scientific Project and Compliance Manager, Institut für Diabetes und Regenerationsforschung, Helmholtz Zentrum München.

Dr. Gerno Schmiedeknecht Leiter der Abteilung GMP Zell- und Genterapie am Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI, Leipzig.

Dr. Anke M. Schulte Leiterin der Abteilung Forschung und präklinische Entwicklung in der Zell- und Genterapie Unit der Bayer AG, Berlin.

Prof. Dr. Simone Spuler Professorin an der Charité Universitätsmedizin und Gruppenleiterin am Experimental and Clinical Research Center des Max-Delbrück-Centers für Molekulare Medizin, Berlin.

Jessica Thiel M. Sc. Naturwissenschaftliche Doktorandin, Abteilung Experimentelle Transfusionsmedizin, Institut für Transfusionsmedizin Dresden, DRK Blutspendedienst Nord-Ost gGmbH.

Dipl.-Phys. Martin Thoma Gruppenleiter Technologie- und Geräteentwicklung und stellvertretender Abteilungsleiter Laborautomatisierung und Bioproduktionstechnik am Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung IPA, Stuttgart; Sekretär der europäischen ManuFuture Subplattform „Biointelligent Manufacturing“; Gründungsmitglied des Kompetenzzentrums Biointelligenz.

Prof. Dr. Dr. h. c. Torsten Tonn Lehrstuhlinhaber für Transfusionsmedizin, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, TU Dresden, und Medizinischer Geschäftsführer des DRK Blutspendedienstes Nord-Ost gGmbH; Institutsleiter des Instituts für Transfusionsmedizin Dresden des DRK Blutspendedienstes Nord-Ost gGmbH.

Prof. Dr. Jörn Walter Professor für Genetik an der Universität des Saarlandes; Mitglied der Academia Europaea, London; Stellvertretender Vorsitzender des Internationalen Humanen Epigenom Konsortiums (IHEC); Stellvertretender Sprecher der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. Dr. Dr. Eva C. Winkler Heisenbergprofessorin für Translationale Medizinethik an der Universität Heidelberg; Oberärztin in der Medizinischen Onkologie am Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen, Universitätsklinikum Heidelberg; Mitglied im Vorstand der Akademie für Ethik in der Medizin; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Univ.-Prof. Dr. Martin Zenke Professor für Zellbiologie, Medizinische Klinik IV, Hämatologie, Onkologie und Stammzelltransplantation, Universitätsklinikum der RWTH Aachen; Mitglied der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES), Robert Koch-Institut (RKI), Berlin; Mitglied der AG *Gentechnologiebericht*.

Prof. Dr. Wolfram-Hubertus Zimmermann Direktor des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie der Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August Universität; Sprecher des Deutschen Zentrums für Herzkreislaufforschung (DZHK), Standort Niedersachsen; Mitglied der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES), Robert Koch-Institut (RKI), Berlin; Mitglied des Deutschen Zentrums für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE), Göttingen; Vorstandsmitglied des Exzellenz-Clusters – Multiscale Bioimaging (MBExC), Göttingen; Mitglied am Fraunhofer Institut für Translationale Medizin und Pharmakologie (ITMP), Göttingen; Mitglied des Campus-Instituts Data Science (CIDAS), Göttingen.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 2.1	Hype-Zyklus der Gentherapie (nach Gartner)	17
Abb. 3.1	Zentrales Dogma der Molekularbiologie	26
Abb. 3.2	Durch retrovirale Vektoren veränderte Zellen werden resistent gegen Chemotherapie	29
Abb. 3.3	Strategie zur Eliminierung genveränderter Zellen im Falle unerwünschter Ereignisse	39
Abb. 3.4	Genetische Modifikation von therapeutischen Zellen für deren Aufreinigung	40
Abb. 3.5	Die genetische Modifikation von Zellen schützt die Zellen vor einer Infektion	42
Abb. 3.6	Überblick über aktuelle und potenzielle Anwendungen von Gen- und Zelltherapien	44
Abb. 4.1	Aufbau Adeno-assoziiierter Viren und erste Schritte der Zellinfektion	52
Abb. 4.2	Adeno-assoziierte Viren als virale Vektoren	56
Abb. 4.3	Modifikationen des AAV-Kapsids zur Verbesserung der Spezifität des AAV-Vektors	68
Abb. 5.1	Schematischer Überblick über die transposasevermittelte Cut-and-Paste-Transposition	75
Abb. 5.2	Beispiele für Anwendungen des Sleeping- Beauty-Transposonsystems	78
Abb. 6.1	Grafische Darstellung wichtiger nichtviraler Vektoren	91
Abb. 7.1	Technische Grundlagen des Genome-Editing	109
Abb. 8.1	Herstellung von CAR-T-Zellen und biologische Ansätze zur Erhöhung der Verfügbarkeit von CAR-Immuntherapien	127
Abb. 8.2	Technologische Innovationen für die automatisierte Herstellung von CAR-Effektorzellen	130
Abb. 9.1	Jährliche Anträge auf Genehmigung einer klinischen Prüfung mit ATMP durch das Paul-Ehrlich-Institut in Deutschland	143
Abb. 9.2	Jährliche wissenschaftliche Beratungen zu ATMP durch das Paul-Ehrlich-Institut	145
Abb. 10.1	Der modulare Aufbau der chimären Antigenrezeptoren (CARs) und die Funktionen der jeweiligen Module	149

Abb. 10.2	Die Herstellung des CAR-T-Zellprodukts ist ein Mehrstufenprozess, der mit der Gewinnung der patienteneigenen T-Zellen beginnt und die genetische Modifikation der T-Zellen und deren anschließende Vermehrung in vitro umfasst	153
Abb. 12.1	Möglichkeiten des Einsatzes von Organoiden in der Zelltherapie	187
Abb. 16.1	Schematische Darstellung zur Unterscheidung von Zell- und Gentherapien	242
Abb. 20.1	Einstellungen zu Gentherapie und genetischem Enhancement bei Erwachsenen und Embryonen	301
Abb. 21.1	Titelblatt Stellungnahme Leopoldina et al. zu Genome-Editing	313
Abb. 21.2	Startseite TA Swiss zu Genome-Editing	314

Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1	Klinische Gentherapiestudien Phase II und höher	14
Tab. 2.2	In Deutschland zugelassene Gentherapeutika (GTMP)	15
Tab. 2.3	In Deutschland zugelassene somatische Zelltherapeutika sowie biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte (TEP).	19
Tab. 4.1	Zugelassene Gentherapeutika (AAV-vektorbasiert) in Europa (Europäische Union)	59
Tab. 6.1	Wichtige nichtvirale Vektoren	90
Tab. 10.1	Kommerzielle CAR-T-Zellprodukte	156
Tab. 12.1	Allgemeine Vorteile von Organoiden	185
Tab. 14.1	Zugelassene ATMP aus Stammzellen in Europa [Stand Juli 2023]	220
Tab. 16.1	Zugelassene In-vivo-Gentherapien in der EU und den USA (Januar 2023)	247
Tab. 22.1	Liste der aktuell in Deutschland zugelassenen Gentherapeutika und ihrer Therapiekosten laut G-BA (Angaben ohne Gewähr)	319



Handlungsempfehlungen zur somatischen Gentherapie, Keimbahninterventionen und Zelltherapie

Boris Fehse, Jörn Walter, Sina Bartfeld, Stephan Clemens, Tobias Erb, Heiner Fangerau, Jürgen Hampel, Martin Korte, Ralf Müller-Terpitz, Stefan Mundlos, Jens Reich, Silke Schicktzan, Eva C. Winkler und Martin Zenke

1.1 Gentherapieforschung

Der umfassende Aufschwung der klinischen Gentherapie seit ca. 2010 (vgl. „Fünfter Gentechnologiebericht“¹) hat sich in den vergangenen Jahren fortgesetzt und konsolidiert. Der daraus resultierende breite Einstieg großer Biotech- und Pharma-

¹Fehse, B. et al. (Hrsg.) (2021): Fünfter Gentechnologiebericht. Sachstand und Perspektiven für Forschung und Anwendung. Nomos, Baden-Baden. Online verfügbar unter: <https://www.nomos-library.de/10.5771/9783748927242/fuenfter-gentechnologiebericht>.

B. Fehse (✉)

Forschungsabteilung Zell- und Gentherapie, Klinik für Stammzelltransplantation, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg, Deutschland
e-mail: fehse@uke.de

J. Walter

Fachbereich Biowissenschaften, Genetik / Epigenetik, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Deutschland

S. Bartfeld

Medizinische Biotechnologie, Institut für Biotechnologie, Technische Universität Berlin, Berlin, Deutschland

S. Clemens

Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie, Universität Bayreuth, Bayreuth, Deutschland

T. Erb

Max-Planck-Institut für Terrestrische Mikrobiologie, Marburg, Deutschland

H. Fangerau

Institut für Geschichte, Theorie und Ethik der Medizin, Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf, Düsseldorf, Deutschland

J. Hampel

Institut für Sozialwissenschaften, Universität Stuttgart, Stuttgart, Deutschland

M. Korte

Abt. Zelluläre Neurobiologie, Biozentrum, TU Braunschweig, Zoologisches Institut,
Braunschweig, Deutschland

R. Müller-Terpitz

Institut für Deutsches, Europäisches und Internationales Medizinrecht, Gesundheitsrecht und
Bioethik der Universitäten Heidelberg und Mannheim, Mannheim, Deutschland

S. Mundlos

Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Charité – Universitätsmedizin Berlin,
Berlin, Deutschland

J. Reich

Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin, Deutschland

S. Schicktanz

Institut für Ethik und Geschichte der Medizin, Universitätsmedizin Göttingen,
Göttingen, Deutschland

E. C. Winkler

Nationales Centrum für Tumorerkrankungen (NCT) Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

M. Zenke

Medizinische Klinik IV, Universitätsklinikum Aachen, Aachen, Deutschland

firmen führte zu einer deutlich verbesserten materiellen und technologischen Basis, sowohl im Bereich der „klassischen“ Gentherapie als auch bei den neuen Techniken des Genome-Editing somatischer Zellen. Weiterhin bleiben jedoch die Entwicklung und Bereitstellung geeigneter Gentransfertechnologien für beide Ansätze eine *Conditio sine qua non* für die Effizienz und Sicherheit sowie für die breite Anwendbarkeit in der klinischen Versorgung von Patienten. Hier wird es auch in Zukunft keine einfache Lösung für alle Anwendungen geben, sondern spezielle genetische Vehikel (Vektoren) für die jeweilige klinische Gentherapiestrategie. In Deutschland tätige Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler im Bereich der Vektorforschung und der Gentransfertechnologien sind seit Langem international führend. Auch in angewandten Feldern wie beim Genome-Editing, der adoptiven Immuntherapie oder der HIV-Gentherapie kommen international führende Arbeiten aus Deutschland. Hier machen sich die Verbindung von grundlagenwissenschaftlicher und anwendungsorientierter Forschung in vielen Instituten sowie die ausgezeichnete Vernetzung von Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern mit Klinikerinnen und Klinikern innerhalb Deutschlands sehr bezahlt. Zu Einzelheiten verweisen wir auch auf

eine kürzlich erschienene Publikation² führender deutscher Gentherapieforscherinnen und -forscher, die einen sehr detaillierten Überblick über den Stand der Gentherapieforschung in Deutschland gibt.

Empfehlungen

Das Beispiel CRISPR/Cas demonstriert eindrücklich, dass scheinbar plötzliche wissenschaftliche Durchbrüche auf jahrzehntelanger Grundlagenforschung beruhen. Auch viele erfolgreiche deutsche Gentherapieprojekte basieren auf langfristig etablierten und geförderten Forschungsnetzwerken.³ Die Förderung solcher Forschungsstrukturen im Bereich der Gentherapie sollte daher sowohl von der DFG als auch vom BMBF unbedingt fortgesetzt werden.

1.2 Klinische Translation

Leider muss trotz der positiven Positionierung deutscher Forschender in der Grundlagenforschung konstatiert werden, dass sich, was die klinische Translation gentherapeutischer Konzepte betrifft, der Rückstand Deutschlands (und generell Europas) gegenüber China, aber auch den USA (mit einem ähnlichen rechtlichen und forschungsethischen Rahmen) weiter vergrößert hat. Dies lässt sich sehr klar an der im direkten Vergleich deutlich geringeren Zahl klinischer Studien illustrieren, die von Deutschland aus initiiert werden (siehe Tab. 2.1). Das betrifft sowohl Studien, die von Firmen durchgeführt werden, als auch in besonderem Maße solche, die aus akademischen Institutionen heraus initiiert werden (sog. Investigator-initiated-Trials, IITs). Für die relativ langsame Umsetzung selbstentwickelter und präklinisch erfolgreich getesteter Strategien in klinischen IITs wurde eine Reihe unterschiedlicher Ursachen ausgemacht, die zum Teil für ganz Europa gelten, zum Teil aber auch spezifisch für Deutschland sind. Auf europäischer Ebene gelten strengere Regularien⁴ im Vergleich selbst zu den USA. Diese sorgen für höhere Kosten und größeren Aufwand und verursachen einen immer größeren Abstand zwischen der Anzahl der klinischen Studien, obwohl in den USA keinesfalls geringere Standards an die Patientensicherheit angelegt werden als in der EU. Den höheren Kosten steht in Deutschland eine vergleichsweise zurückhaltende

²Büning et al., 2021 (auch auf Deutsch verfügbar unter: https://d6a27bf6-9c2f-4d3f-8359-1cb2d86b3d4d.usrfiles.com/ugd/d6a27b_7aae90639c584ac584e632121e96b499.pdf [28.06.2023]).

³Das sicher bekannteste Beispiel ist die Fa. BioNTech, deren Gründer Uğur Şahin zunächst im DFG-Sonderforschungsbereich (SFB) 432 und schließlich vom BMBF in der Gründungsoffensive Biotechnologie (GO-Bio) mit dem Ziel der Entwicklung neuer, mRNA-basierter Krebsimmuntherapien gefördert wurde.

⁴Clinical Trials Regulation, Verordnung (EU) Nr. 536/2014, und vor allem ATMP-Verordnung (EG) 1394/2007.

Finanzierung durch öffentliche und private Geldgeber sowie die Industrie gegenüber. Zugleich fehlen hiesigen Hochschulen alternative Finanzquellen wie sie z. B. in den USA mit dem ausgeprägten Alumni- und Spendersystem existieren, sodass Universitäten dort viel eher in der Lage sind, eigene Studien zu initiieren.

Empfehlungen

Mit dem Ziel der effizienteren klinischen Umsetzung der erfolgreichen akademischen Gentherapieforschung in Deutschland empfiehlt die AG die Implementierung strukturierter Programme zur Förderung der Translation innovativer zell- und gentherapeutischer Ansätze. Wie der Erfolg der CAR-T-Zelltherapien bei zuvor unheilbaren Krebserkrankungen gezeigt hat, besitzen Gentherapien in einigen Bereichen ein bahnbrechendes Potenzial und können schnell neue Standards definieren. Gleiches gilt für die Behandlung verschiedener bislang unheilbarer monogener Erbkrankheiten, die oft mit erheblichen Einschränkungen der Lebensqualität verbunden sind.

Die vom Deutschen Bundestag angestoßene Translationsinitiative im Bereich Gen- und Zelltherapie ist unbedingt zu unterstützen. Wir halten weiterhin den Aufbau mehrerer Kompetenzzentren in Analogie zu den Deutschen Gesundheitszentren für essenziell, um die Entwicklung der Gentherapie auf breiter Basis zu fördern.

1.3 Zulassungsstudien und lizenzierte Gentherapien

Im Gentherapiefeld sind breite Fortschritte ersichtlich, die sich u. a. in der international beträchtlich gestiegenen Zahl klinischer Studien, insbesondere auch der Zulassungsstudien (Phasen IIb und III), sowie deren oft positiven (Zwischen-)Ergebnissen widerspiegeln. Entsprechend sind für die kommenden Jahre weitere Zulassungen in unterschiedlichen Bereichen der Medizin zu erwarten – vor allem in der Krebsgentherapie (zelluläre Immuntherapie, onkolytische Viren) wie auch bei der Behandlung monogener Erbkrankheiten.

Wie bereits im letzten Gentherapieband (2011)⁵ und in den Gentechnologieberichten 4⁶ und 5⁷ von uns antizipiert, sind inzwischen auch in Europa eine Reihe von Gentherapien zugelassen, sowohl (und vorrangig) in der Hämatologie/Onkologie als auch bei monogenen Erbkrankheiten. Allerdings bleiben in Deutschland

⁵Fehse, B./Domasch, S. (Hrsg.) (2011): Gentherapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Forum W, Dornburg.

⁶Hucho, F. et al. (Hrsg.) (2018): Vierter Gentechnologiebericht. Bilanzierung einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden. Online verfügbar unter: <https://www.nomos-elibrary.de/10.5771/9783845293790/vierter-gentechnologiebericht>.

⁷Fehse et al. 2021 (siehe Fn. 1).

bzw. Europa die Zahlen der lizenzierten Therapien wie auch ihrer tatsächlichen Anwendungen aus unterschiedlichen Gründen⁸ hinter denen in den USA und China zurück; in einzelnen Fällen wurden sogar bereits zugelassene Therapien wieder vom europäischen Markt zurückgezogen.⁹

Neben der oft beeindruckenden Wirksamkeit machen die neu zugelassenen Gentherapeutika auch weiterhin mit ihren hohen Preisen und den daraus teilweise resultierenden Konflikten und Gerechtigkeitsfragen Schlagzeilen. Neue lizenzierte Gentherapeutika erwarben jeweils den zweifelhaften Ruhm als „teuerste Arzneimittel der Welt“ – von der ersten „1-Mio.-\$-Spritze“ Glybera® (zur Behandlung einer sehr seltenen Stoffwechselstörung, Lipoproteinlipase-Defizienz) über Zolgensma® (zur Behandlung der spinalen Muskelatrophie), das 2020 die 2-Mio.-\$-Grenze überschritt, bis zu Hemgenix® (zur Therapie der Hämophilie B, einer Form der „Bluterkrankheit“), das im November 2022 zu einem Preis von 3,5 Mio. US\$ in den USA zugelassen wurde. Diese sehr hohen Therapiekosten können sich unmittelbar auf die Patientenversorgung auswirken, und das nicht nur in ärmeren Regionen der Welt. So ließ die Firma uniQure ihre Zulassung für das Präparat Glybera® auslaufen, da es sich zu dem Preis von 1 Mio. € nicht kommerziell vermarkten ließ. Weil sich Firma und Kostenträger in Europa nicht auf einen für beide Seiten akzeptablen Preis einigen konnten, nahm Bluebird Bio Zynteglo® vom europäischen Markt.¹⁰ In den USA kostet die Therapie ca. 2,8 Mio. US\$, ein Mehrfaches der ebenfalls kurativen allogenen Stammzelltransplantation.¹¹ Es mag überraschen, dass die Kostenträger die zum Teil höheren Preise für Zolgensma® und Hemgenix® akzeptiert haben. Allerdings existieren für die beiden damit behandelten monogenen Erbkrankheiten entweder gar keine alternativen therapeutischen Ansätze („unmet medical need“) oder die Kosten der Gen-

⁸Viele Gentherapien wurden und werden von US-Firmen entwickelt, die entsprechend auch die Zulassungen zunächst in den USA anstreben. Zugleich ist die Zulassung in den USA aufgrund der dort erreichbaren höheren Preise auch für europäische Firmen attraktiver. Auch der Rückzug von Gentherapieprodukten vom europäischen Markt erfolgte, weil keine Einigung mit den Kostenträgern erreicht werden konnte. Können (vor allem in den ersten Monaten bis Jahren nach Zulassung) noch nicht genug Präparate für den gesamten Weltmarkt hergestellt werden, bevorzugen die Hersteller ebenfalls den (hochpreisigeren) US-Markt, so aktuell bei Carvikty®, das in der EU zwar seit März 2022 zugelassen, aber praktisch kommerziell noch nicht erhältlich ist.

⁹Die Gründe für die Marktrücknahme von Glybera® sowie Zynteglo® werden im folgenden Absatz erläutert.

¹⁰Laut DGHO hatte die Schiedsstelle des AMNOG-Verfahrens nach erfolglosen Verhandlungen zwischen Bluebird Bio und dem Spitzenverband der Krankenkassen (GKV-SV) einen Preis festgelegt, der um mehr als die Hälfte niedriger als der von Bluebird Bio geforderte Preis lag. Siehe unter: <https://www.dgho.de/aktuelles/news/newsarchiv/2021/bluebird-bio-nimmt-das-gentherapieapetitum-zynteglo-r-aus-wirtschaftlichen-gruenden-vom-deutschen-markt> [22.02.2023].

¹¹Die allogene Stammzelltherapie kann mit zum Teil schweren, potenziell lebensbedrohlichen Nebenwirkungen assoziiert sein, die bei der Therapie mit genmodifizierten autologen Stammzellen nicht zu erwarten sind. Zugleich gibt es für die allogene Stammzelltherapie umfangreiche Erfahrungen zur Langzeitwirksamkeit und damit zur Schaden-Nutzen-Analyse, die für die Gentherapie noch fehlen.

therapien erscheinen angesichts der bisherigen (kumulativen) Behandlungskosten bei diesen Krankheiten adäquat.

Insgesamt unterstreicht die steigende Zahl an Zulassungen das enorme Potenzial der Gentherapie, gerade im Bereich bisher unheilbarer Krankheiten. Zugleich ist ein umfassender und uneingeschränkter Zugang zu den oft lebensrettenden Therapien selbst in Industrieländern wie Deutschland bisher nicht durchgehend gewährleistet. Neben den hohen Preisen sind dafür auch fehlende GMP-Herstellungskapazitäten für Vektoren wie auch genmodifizierte Zellen verantwortlich.

Empfehlungen

Im Interesse der Patientinnen und Patienten sollten Bedingungen etabliert werden, die einen uneingeschränkten Zugang zu neuartigen, evidenzbasierten Therapien, deren Entwicklung über viele Jahre mit Steuermitteln gefördert wurde, sicherstellen. Zugleich ist es notwendig, in kurzer Zeit ausreichende Kapazitäten für die Herstellung unterschiedlicher Gentherapeutika (sowohl für die Vektorproduktion als auch für die Generierung genmodifizierter Zellen) in Deutschland zu schaffen. Dabei könnten, je nach der unmittelbaren Zielstellung, unterschiedliche Modelle (Point of Care, PPP, zielgebundene Subventionen) zum Einsatz kommen.

1.4 Keimbahninterventionen

Seit den 1990er-Jahren wurden Keimbahninterventionen¹² im wissenschaftlichen Diskurs eher abgelehnt. Im Vordergrund standen ethische Einwände, die vor allem die Sorge adressierten, dass unvorhergesehene Folgen für künftige Generationen aus solchen Eingriffen entstehen können und in die Integrität möglicher kommender Generationen eingegriffen wird. Je nach Debatte und Ausrichtung des Diskurses standen Argumentationen mit Blick auf die Menschenwürde, Selbstbestimmung oder Natürlichkeitsüberlegungen im Vordergrund. Dammbbruchargumente wurden vor allem in Bezug auf Forderungen nach einzelnen gezielten Eingriffen vorgebracht. Seit der Stellungnahme der nationalen Akademien der Wissenschaften (NASEM) aus 2017 ist der Diskurs eher durch eine grundsätzliche Befürwortung geprägt, wobei die Bedingung gestellt wird, dass Risiken besser untersucht und eingeschätzt werden müssten. Auch der Deutsche Ethikrat hat sich 2019 mehrheitlich dafür ausgesprochen, Modifikationen der menschlichen Keimbahn zur Verhinderung schwerster Erbkrankheiten nicht von vornherein auszuschließen, sofern eine hin-

¹²Die somatische Gentherapie zielt (im Gegensatz zu Keimbahninterventionen) auf die ausschließliche Modifikation von Körperzellen. Die Empfehlungen zur somatischen Gentherapie stehen im Einklang mit den diesbezüglichen Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Gentherapie (DG-GT): Büning, H. et al. (2021): Gene therapy „made in Germany“: a historical perspective, analysis of the status quo, and recommendations for action by the German Society for Gene Therapy. In: Human Gene Therapy 32: 987–996.

reichend sichere Anwendung gewährleistet ist. Hier zeigt sich eine Verlagerung der Debatte, die für bioethische Diskurse in den letzten 150 Jahren nicht unüblich ist. Zweckorientierte Argumente überlagern wertorientierte Debatten und moralische Fragen werden durch einen Risikodiskurs ersetzt.¹³ Es ist jedoch fraglich, wann und ob eine Keimbahnintervention überhaupt als hinreichend sicher gelten kann. Vor dem Hintergrund, dass keine klinischen Studien möglich sowie die Auswirkungen eines Eingriffs vergleichsweise weitreichend sind und zudem nicht nur ein Individuum, sondern auch zukünftige Generationen betreffen, kann bestritten werden, dass das Sicherheitsargument tatsächlich temporär ist. Außerdem kann auch gegen eine zukünftige Anwendung von Keimbahninterventionen eingewendet werden, dass nach deutscher Rechtslage praktisch kaum eine medizinische Indikation besteht. Die Präimplantationsdiagnostik (PID) bietet (zumindest den allermeisten) mit schweren Erbkrankheiten genetisch belasteten Paaren eine Möglichkeit, ein eigenes gesundes Kind zu bekommen. Die PID, insbesondere die mit ihr verbundene Selektion und Verwerfung von Embryonen, ist zwar ethisch umstritten, setzt dafür aber künftige Kinder und deren Nachkommen nicht den kaum abschätzbaren und damit immer erheblich größeren Risiken einer Keimbahnintervention aus.

Empfehlungen

Die AG hält Keimbahninterventionen durch Genome-Editing mit Auswirkungen auf geborene Menschen für derzeit nicht vertretbar. Sie sieht auch zukünftig, zumindest vor dem Hintergrund der deutschen Rechtslage zur PID, praktisch kaum eine medizinische Indikation für eine solche Anwendung. Der Schutz von Embryonen in vitro sollte nach Ansicht der AG nicht über die Gesundheit von Behandelten und deren Nachkommen gestellt werden.

Das Verbot von Keimbahninterventionen in Deutschland ergibt sich aus dem Embryonenschutzgesetz. Allerdings ist nicht ausgeschlossen, dass das bestehende Verbot der Keimbahnintervention auf Basis der Fortschritte z. B. im Bereich induzierter pluripotenter Stammzellen und deren Differenzierbarkeit in Keimbahnzellen, technisch umgangen werden kann. Dies müsste bei einer möglichen Novellierung des Embryonenschutzgesetzes beachtet werden.

1.5 Ungeprüfte Stammzelltherapien

Ungeprüfte Stammzelltherapien sind stammzellbasierte Therapien, die nicht im Rahmen klinischer Studien auf ihre Sicherheit und Wirksamkeit geprüft wurden und als Therapie daher keine behördliche Zulassung haben. Sie werden in zunehmendem Maße über das Internet international kommerziell angeboten und von

¹³Fangerau, H. (2018): Zur Geschichte der Gentechnologie: Eine historische Vermessung. In: Hucho, F. et al. (Hrsg.) (2018): 69–88.

Patientinnen und Patienten in schwierigen und oft verzweifelten Lebenssituationen nachgefragt und in Anspruch genommen. Ungeprüfte Stammzelltherapien berufen sich, oft ohne Datenbasis, auf das regenerative und therapeutische Potenzial von Stammzellen, können aber nicht nur wirkungslos, sondern sogar gefährlich sein. Die rechtlichen Möglichkeiten, gegen ungeprüfte Stammzelltherapieangebote vorzugehen oder sie zu unterbinden, sind begrenzt. Je nach Beschaffenheit des Stammzellpräparates, der Anwendung und angeblichen Wirkungsweise und dem Land, in dem die Behandlung erfolgt, sind klinische Studien, Zulassung und Genehmigung rechtlich für ihre Vermarktung nicht unbedingt erforderlich.

Die sich aus ungeprüften Stammzelltherapieangeboten ergebende Problematik wird in zunehmendem Maße international und national von Stammzellforscherinnen und -forschern wahrgenommen und diskutiert. Die International Society for Stem Cell Research (ISSCR), das German Stem Cell Network (GSCN) und das Stammzellnetzwerk.NRW haben webbasierte Informationsplattformen eingerichtet, auf denen sich Patientinnen und Patienten sowie Interessierte über zugelassene Stammzelltherapien und Risiken ungeprüfter Stammzelltherapien informieren können.

Empfehlungen

Die in wachsendem Maße international angebotenen und nachgefragten ungeprüften Behandlungsangebote mit Stammzellen sehen wir mit großer Sorge. Ein leichtfertiger Umgang mit Stammzellen und die Applikation von ungenügend charakterisierten Stammzellpopulationen in Patientinnen und Patienten sind unverantwortlich und gefährlich. Wir empfehlen eine möglichst breite Aufklärung von Interessierten und Betroffenen über den augenblicklichen Stand der Stammzellforschung und eine klare Abgrenzung der geprüften Stammzelltherapien von ungeprüften Stammzelltherapieangeboten. Patientinnen und Patienten sollten in die Lage versetzt werden, Chancen und Risiken der Behandlungen selbst einschätzen zu können.

Die regulatorische Einordnung ungeprüfter Stammzelltherapien erweist sich im Einzelfall als schwierig. Der Gesetzgeber hat im Jahr 2019 per Gesetz zur Sicherheit in der Arzneimittelversorgung eine Anzeige-, Dokumentations- und Meldepflicht eingeführt, die auf solche Therapien Anwendung finden kann. Die Wirkung dieser gesetzlichen Regelungen, aber auch die dem europäischen und nationalen Gesetzgeber zur Verfügung stehenden faktischen und normativen Handlungsmöglichkeiten sind zu evaluieren, bevor weitere Reformen auf europäischer oder nationaler Ebene ins Auge gefasst werden.

1.6 Organoide in der Zell- und Genterapie

Organoide sind dreidimensionale Zellkulturen, die aus Stammzellen entstehen und zumindest teilweise Funktionen eines Organs oder Gewebes abbilden.

Organoide bieten als humane Krankheitsmodelle und Testsysteme für Screenings großes Potenzial, Tierversuche in Zukunft zu ergänzen oder sogar für be-

stimmte Fragen zu ersetzen. Sie stellen realistischere Modelle dar für Erkrankungen, die in Tieren nicht vorkommen, und ermöglichen zudem einen besseren Zugang zur Erforschung humanspezifischer Erreger oder Erkrankungen wie z. B. Alzheimer oder Parkinson oder bestimmter Hautkrankheiten, für die keine Tiermodelle existieren. In Bezug auf Wirkstoff- und Arzneimittelscreenings in Toxikologie und Pharmakologie, bei denen bereits heute humane 2D-Zellkulturen breit ergänzend zu Tierversuchen eingesetzt werden, könnten Organoide als komplexe 3D-Zellkulturen Nachteile beider Methoden aufwiegen; sie sind einerseits physiologisch relevanter als 2D-Kulturen und andererseits kostengünstiger in der Durchführung, humanrelevanter und ethisch vertretbarer als Tierversuche.

Für die Zelltherapie sind Organoide interessant, weil sie erstens ermöglichen, Zelltypen herzustellen, die anders nicht kultivierbar sind, zweitens Zellen im Verband hergestellt werden können, und drittens einige Zellen in Form von Organoiden schonend vermehrt werden können. Organoide können auch genetisch verändert werden und bieten somit die Möglichkeit, genetische Erkrankungen in vitro zu studieren, wie auch in Zukunft die Chance, gentherapeutische Ansätze zu realisieren. Langfristig wird damit ermöglicht, genetische Defekte in den betreffenden, therapeutisch relevanten Zellen zu korrigieren, bevor sie für ein Transplantat in Frage kommen.

Empfehlungen

Die Nutzung von Organoiden als Krankheitsmodelle und Testsysteme für toxikologische und pharmakologische Screenings hat das Potenzial, Tierversuche in Grundlagenforschung und pharmazeutischer Industrie zu ergänzen und teilweise zu ersetzen. Vor dem Hintergrund des international anerkannten Prinzips der 3R („replacement, refinement, reduction“) und dessen Umsetzung durch die EU-Richtlinie „[...] zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere“ (2010/63/EU) ist es wichtig, dass Alternativmethoden durch entsprechende Förderungen entwickelt, validiert und dann eingesetzt werden. Hierfür sind auch die rechtlichen Vorgaben für den sog. Verbraucherschutz bezüglich Verträglichkeit und Toxikologie zu überprüfen und anzupassen.

Zukünftige Zelltherapien werden auf vielen Jahren Grundlagenforschung zur Differenzierung von Stammzellen und der (Selbst-)Organisation von Zellen in Organoiden und Geweben basieren. Die Förderungen sollten in diesem Bereich ausgeweitet werden und zusätzlich zu den bestehenden Fördermöglichkeiten gezielt Forschungsverbünde und/oder Zentren zur Erforschung menschlicher Gewebe und Organoide geschaffen werden, da diese Forschung synergistisch sowohl den Ersatz von Tierversuchen nach dem 3R-Prinzip als auch die Entwicklung von Zelltherapien vorantreibt.

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Einleitung: Gen- und Zelltherapie – „zwei Seiten zweier Medaillen“

2

Boris Fehse

2.1 Gen- und Zelltherapie 2.023

Der vorliegende Band zur Gen- und Zelltherapie schließt an eine Reihe einschlägiger Kapitel in den bisher vorgelegten Gentechnologieberichten 1–5 sowie spezifischer Themenbände der AG *Gentechnologiebericht* an.¹ Wie bisher wurden die unterschiedlichen Kapitel von in dem jeweiligen Fachgebiet bestens ausgewiesenen Expertinnen und Experten² geschrieben. Neu ist diesmal, dass wir im Unterschied zu den früheren Büchern der AG beide Themen – Gentherapie und Zelltherapie – in einem Band behandeln. Dies hat den ganz einfachen praktischen Grund, dass es sich bei vielen der inzwischen schon sehr erfolgreich klinisch angewendeten Gen- wie auch Zelltherapien eigentlich um kombinierte Therapien handelt, sodass eine Abgrenzung eher artifiziell ist. Als Beispiel mögen die CAR-T-Zelltherapien dienen, bei denen es sich um zelluläre Immuntherapien handelt, die auf jahrzehntelangen Erfahrungen in der adoptiven Zelltherapie (siehe Kolb/Fehse, Kap. 11) basieren. Zugleich war der Erfolg der CAR-T-Zellen nur durch die genetische Modifikation mit einem im Labor hergestellten neuartigen „chimären Antigenrezeptor“ (CAR) möglich (siehe Harrer/Abken, Kap. 10), der mithilfe modernster Gentransfervektoren (siehe Morgan et al., Kap. 3; Jäschke/Büning, Kap. 4; Nurieva et al., Kap. 5; Aigner, Kap. 6) in die Zellen eingebracht wurde. In den Laboren und ersten

¹ Siehe Fehse et al. 2021; Bartfeld et al. 2020; Zenke et al. 2018; Hucho et al. 2018; Müller-Röber et al. 2015; Fehse und Domasch 2011; Müller-Röber et al. 2009 und Hucho et al. 2005.

² Im vorliegenden Band wurde bewusst nicht einheitlich gegendert, sondern den jeweiligen Autoren überlassen, ob und in welcher Form (Doppelnennung, ggf. abgekürzt, oder Asterisk) sie gendern möchten.

B. Fehse (✉)

Forschungsabteilung Zell- und Gentherapie, Klinik für Stammzelltransplantation, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg, Deutschland
e-mail: fehse@uke.de

klinischen Studien wird schon an neuen Generationen der CAR-T-Zellen gearbeitet, die z. B. durch Genome-Editing (siehe Fehse et al., Kap. 7) noch potenter und/oder breiter einsetzbar gemacht werden.

Zugleich gibt es auch weiterhin gen- und zelltherapeutische Strategien, die jeweils unabhängig voneinander entwickelt werden. Auch hierfür wird im vorliegenden Band eine Reihe von Beispielen gebracht. Kap. 11 (Kolb/Fehse) widmet sich der „Urmutter“ aller Zelltherapien, der hämatopoetischen Stammzelltransplantation, die in den vergangenen mehr als 50 Jahren zehntausende Leben rettete. Im Gegensatz dazu stellen die Organoide, die in Kap. 12 (Bartfeld) dargestellt werden, ein vergleichsweise junges, aber nichtsdestotrotz sehr vielversprechendes Forschungsfeld dar. Die beiden darauf folgenden Kapitel untersuchen die Potenziale pluripotenter (Zimmermann et al., Kap. 13) und adulter (Besser et al., Kap. 14) Stammzellen für unterschiedlichste zelltherapeutische Verfahren. Ein Spotlight (Zenke, Kap. 15) macht auf die Schattenseiten der jüngsten, oft mit großer Breitenwirkung publizierten Fortschritte der Stammzelltherapien aufmerksam – das zunehmende Angebot ungeprüfter, meist unwirksamer oder sogar gefährlicher Stammzelltherapien.

Damit neue therapeutische Ansätze den Weg aus dem Labor in die klinische Anwendung schaffen, ist einiges mehr als exzellente Forschung notwendig. Auch dies wird im vorliegenden Band behandelt. Da es sich bei Gen- und Zelltherapien offensichtlich nicht um klassische Pharmazeutika handelt, die man in Pillen pressen oder als Lösung verabreichen kann, musste ein spezielles Regelwerk geschaffen werden. Zusammenfassend werden solche neuartigen Therapien als ATMP bzw. „Advanced Therapy Medicinal Products“ (Arzneimittel für neuartige Therapien) bezeichnet.³ Die für die klinische Anwendung von ATMP geltenden Regularien und die gesetzlichen Grundlagen werden in einem Spotlight (Scherer/Berger, Kap. 9) sowie Kap. 17 (Müller-Terpitz) dargestellt. Die aus den speziellen Anforderungen resultierenden Besonderheiten bei der Herstellung von ATMP werden in Kap. 8 (Blache et al.) widergespiegelt. Damit die initial zumeist im universitären Bereich und im Folgenden in kleinen Biotech-Firmen entwickelten neuen Therapieverfahren breit verfügbar wurden, war das Engagement auch großer Pharmafirmen notwendig; Kap. 16 (Cohnen et al.) gibt den Blick einer der im Feld engagierten Firmen wieder.

Moderne biomedizinische Verfahren können Unsicherheiten hervorrufen und sind mit verschiedenen bereits eminenten wie auch potenziellen ethischen Problemen verbunden. Eine Sorge, die nicht zuletzt seit dem Fall Jiankui He viele Menschen umtreibt, ist die gezielte Editierung von Embryonen bis hin zur Generierung von „Designerbabys“.⁴ Solche intendierten Keimbahnveränderungen sind aufgrund der gültigen Rechtslage in Deutschland (und vielen anderen Ländern) ausgeschlossen. Nichtsdestotrotz sind mit der Geburt der beiden Mädchen in China die internationalen ethischen Diskussionen zu diesem Thema neu aufgeflammt – in Kap. 18 (Schickl) wird ihr aktueller Stand dargestellt und diskutiert. Das daran

³ Siehe unter: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/atmp-node.html> [23.06.2023].

⁴ Biomedizinische Hintergründe zu Keimbahnmodifikationen werden im vorliegenden Band nicht behandelt. Siehe dazu: Fehse und Abramowski-Mock 2021.

anschließende Spotlight (Fangerau, Kap. 19) widmet sich einem ähnlichen Thema – den Grenzen der Medizin und dem „Human Enhancement“. Ein anderes, für einzelne Patienten oft akutes Problem sind die zum Teil extrem hohen Kosten der Genterapie, die selbst für die Gesundheitssysteme reicher Länder wie Deutschland eine Belastung darstellen und in manchen Fällen sogar den Zugang zu hoch-effizienten Therapien einschränken. Dieser wie auch der Frage, ob neue Erstattungsmodelle möglicherweise Verbesserungen bringen, widmet sich Kap. 22 (Alex/König).

Schon seit Jahren ist die Einstellung in der Bevölkerung zur Genterapie deutlich aufgeschlossener als z. B. gegenüber der grünen Gentechnik. Kap. 20 (Hampel) untersucht anhand internationaler Daten, ob die jüngsten Fortschritte in der Genterapie, aber auch die mit dem Genome-Editing verbundenen Befürchtungen, die Einstellung gegenüber diesen Ansätzen beeinflusst haben. Passend dazu setzt sich ein Spotlight (Rheinberger, Kap. 21) kritisch mit dem Einsatz von Metaphern in der Wissenschaftskommunikation auseinander.

Im Folgenden soll etwas ausführlicher auf einige wichtige Meilensteine und Grundlagen der Entwicklung der beiden Therapieansätze eingegangen werden.

2.2 Genterapie

Wenn Sie Ihre Studierenden in der Vorlesung, Ihre Freunde beim Smalltalk, aber auch internationale, vor allem amerikanische Wissenschaftlerkollegen bei einem Kongress verblüffen wollen, sollten Sie fragen, wann und wo der weltweit erste Genterapieversuch stattgefunden hat. Es dürfte ziemlich unwahrscheinlich sein, dass jemand die richtige Antwort weiß (1970 in Köln), obwohl seinerzeit sogar der Spiegel berichtete.⁵ Dass jener Versuch des Kölner Pädiaters Heinz Terheggen bis heute weitgehend unter dem Radar geblieben und auch nicht in die „offizielle Geschichtsschreibung“ der Genterapie eingegangen ist, hat sicher mit seiner Vorzeitigkeit und dem daraus resultierenden, aus heutiger Sicht folgerichtigen klinischen Misserfolg zu tun (Terheggen et al. 1975).⁶ Aber schon damals rief das Experiment unter Wissenschaftlern einige Bedenken hervor, die ja auch bereits im Titel des kurzen Spiegelartikels („Etwas Angst“) zum Ausdruck kommen, mit dem der Freiburger Genetiker Carsten Bresch zitiert wird.

Tatsächlich dauerte es noch fast 20 Jahre bis zum „offiziellen“ Start⁷ der Genterapie. Aber auch danach verlief die Entwicklung alles andere als geradlinig. War man 1989/1990 mit großen Ambitionen und vielen Vorschusslorbeeren gestartet, setzte schnell Ernüchterung ein. Viele der Erwartungen erwiesen sich angesichts der

⁵Siehe unter: <https://www.spiegel.de/kultur/etwas-angst-a-bc8c6cb3-0002-0001-0000-000044418151> [20.06.2023].

⁶Ausführlicher in Kap. 7 dieses Buches.

⁷Die erste formal zugelassene Genmarkierungsstudie startete 1989, die erste im engeren Sinne Genterapiestudie 1990, beide am National Institute of Health (NIH) der USA. Ausführlich in Fehse et al. 2011 und Fehse und Domasch 2011.

seinerzeit vorhandenen technischen Möglichkeiten als weit überzogen. Statt der erhofften Erfolge war das erste Jahrzehnt in der öffentlichen Wahrnehmung von Fehlschlägen klinischer Studien und Berichten über schwere Nebenwirkungen geprägt, die die vielen kleinen Fortschritte deutlich überstrahlten. Das Fass zum Überlaufen brachte schließlich der breit rezipierte Tod des Studienpatienten Jesse Gelsinger im Jahr 1998. Dabei waren es vor allem die skandalösen Umstände dieses Todesfalls, die nicht nur in der Wissenschaft, sondern auch in der Öffentlichkeit für Aufsehen und Entsetzen sorgten.⁸ In der Folge zogen sich die Pharmaindustrie, aber auch viele öffentliche Geldgeber komplett aus der Gentherapie zurück, was in den 2000er-Jahren zu einer länger anhaltenden Depression im Feld führte. Selbst erste beeindruckende klinische Durchbrüche, z. B. bei der Behandlung unheilbarer und unbehandelt stets tödlich verlaufender angeborener Immundefekte, wurden öffentlich kaum wahrgenommen, zumal sie in einigen Studien mit schweren Nebenwirkungen assoziiert waren. Erst die klinischen Durchbrüche mit CAR-T-Zellen ab 2011 (siehe Harrer/Abken, Kap. 10), die die Heilung zuvor schon aufgegebenen Patienten mit bestimmten Blutkrebskrankungen ermöglichten, brachten die Wende. Ein zusätzlicher Schub kam durch die rasante Entwicklung des Genome-Editing, vor allem nach der Etablierung von CRISPR/Cas (siehe Fehse et al., Kap. 7). Im Ergebnis kam es in den letzten 10 Jahren nicht nur zu einem rasanten Anstieg bei der Zahl klinischer Studien (siehe Tab. 2.1),⁹ sondern auf Grundlage positiver Studienergebnisse auch zur Zulassung einer ganzen Reihe von Gentherapeutika (siehe Tab. 2.2).

Auch wenn die Entwicklung der Gentherapie retrospektiv betrachtet dem klassischen Hype-Zyklus nach Gartner folgte (siehe Abb. 2.1), war der rasante zweite Frühling in dieser Form nicht unbedingt absehbar. Aber er kam natürlich nicht aus dem Nichts, sondern ist ein Ergebnis der auch in den Jahren der Depression durchgeführten Grundlagen- und präklinischen Forschung, bei der auch viele deutsche Gruppen eine führende Rolle spielten. Von großer Bedeutung für die jüngsten

Tab. 2.1 Klinische Gentherapiestudien Phase II und höher*

	2017	2019	2021	2022
Phase II	445	489	502	549
Phase II/III	25	30	30	32
Phase III	98	126	140	156
Phase IV	3	5	4	5
Gesamt inkl. Phase II	571	650	676	742
Gesamt höher Phase II	126	161	174	193

*Zulassungsstudien sind normalerweise erst nach Phase II. Bei seltenen Erkrankungen oder „unmet medical need“ können auch Phase-II- (i. d. R IIb) Studien für eine (zumeist konditionale) Zulassung ausreichen.

(Quelle: The Journal of Gene Medicine, John Wiley & Sons LTD.)

⁸ Ausführlich in Fehse et al. 2011.

⁹ Erfahrungsgemäß werden die Zahlen für die letzten 1 bis 2 Jahre aufgrund von Nachmeldungen noch nach oben korrigiert.

Tab. 2.2 In Deutschland zugelassene Gentherapeutika (GTMP)

Produkt	Art der Therapie	Indikation	Zulassung (EMA)
Abecma®	Immuntherapie (ex vivo): Autologe CAR-T-Zellen gegen BCMA ^a	• Multiples Myelom (auch „Plasmozytom“: Krebserkrankung aus Plasmazellen)	18.08.2021
Breyanzi®	Immuntherapie (ex vivo): Autologe CAR-T-Zellen gegen das Oberflächenantigen CD19	• Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom ^b (DLBCL) • Primär mediastinales großzelliges B-Zell- Lymphom (PMBCL) • Follikuläres Lymphom Grad 3B (FL3B)	04.04.2022
Carvykti®	Immuntherapie (ex vivo): Autologe CAR-T-Zellen gegen BCMA	• Multiples Myelom	25.05.2022
Glybera®	Genaddition (in vivo): AAV-Vektor ^c mit Lipoproteinlipase(LPL)- Gen zur Muskelinjektion	• Lipoproteinlipase- Defizienz (monogene Erbkrankheit)	25.10.2012 ^d
Imlygic®	Onkolyse (in vivo): Speziell modifizierte, onkolytische Herpes- simplex-Viren	• Melanom (schwarzer Hautkrebs)	16.12.2015
Kymriah®	Immuntherapie (ex vivo): Autologe CAR-T-Zellen gegen CD19	• Akute lymphoblastische B-Zell-Leukämie (B-ALL) bei Kindern (< 25 Jahre) • DLBCL • FL	23.08.2018
Libmeldy®	Genaddition (ex vivo): Autologe Blutstamm-zellen mit Aryl-sulfatase- A(ARSA-)Gen	• Metachromatische Leukodystrophy (MLD) (monogene Erbkrankheit: Lipidspeicherdefekt, der zur Zerstörung von Nervenzellen führt)	17.12.2020
Luxturna®	Genaddition (in vivo): AAV-Vektor mit RPE65- Gen zur Expression in der Netzhaut	• Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) • Retinitis pigmentosa (monogene Erbkrankheiten: defektes RPE65-Gen führt zu Netzhautdegeneration)	22.11.2018
Roctavian®	Genaddition (in vivo): AAV-Vektor mit Gerinnungsfaktor-VIII-Gen zur Leberexpression	• Hämophilie A (monogene Erbkrankheit: Form der Bluterkrankheit durch fehlenden Gerinnungsfaktor VIII)	24.08.2022

(Fortsetzung)

Tab. 2.2 (Fortsetzung)

Produkt	Art der Therapie	Indikation	Zulassung (EMA)
Strimvelis®	Genaddition (ex vivo): Autologe Blutstammzellen mit Adenosin-deaminase(ADA)-Gen	<ul style="list-style-type: none"> • Schwere kombinierte Immundefizienz durch fehlendes Enzym Adenosindeaminase (ADA-SCID)(monogene Erbkrankheit) 	26.05.2016
Tecartus®	Immuntherapie (ex vivo): Autologe CAR-T-Zellen gegen CD19	<ul style="list-style-type: none"> • B-ALL bei Erwachsenen (> 25 Jahre) • Mantelzell-Lymphom 	14.12.2020
Upstaza®	Genaddition (in vivo): AAV-Vektor mit AADC-Gen (neurochirurgisch ins Gehirn appliziert)	<ul style="list-style-type: none"> • Schwere Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase(AADC)-Mangel (monogene Erbkrankheit: führt zu ausgeprägter Muskelschwäche) 	18.07.2022
Yescarta®	Immuntherapie (ex vivo): Autologe CAR-T-Zellen gegen CD19	<ul style="list-style-type: none"> • hochgradiges B-Zell-Lymphom (HGBL) • DLBCL • PMBCL • FL 	23.08.2018
Zolgensma®	Genaddition (in vivo): AAV-Vektor mit SMN1-Gen (intravenös)	<ul style="list-style-type: none"> • Spinale Muskelatrophie (monogene Erbkrankheit: defektes Survival-Motor-Neuron(SMN1)-Gen führt zu Verlust der Motoneuronen, der in ausgeprägter Muskelschwäche resultiert) 	18.05.2020

^aBCMA: „B-cell maturation antigen“.

^bLymphome sind Tumoren des Lymphgewebes / der Lymphknoten (hier aus B-Lymphozyten).

^cAAV-Vektoren sind von Adeno-assoziierten Viren (AAV) abgeleitete Gentransfervektoren.

^dZulassung im Jahr 2017 ausgelaufen, da keine Verlängerung beantragt wurde.

(Quelle: <https://www.pei.de/DE/Arzneimittel/atmp/gentherapeutika/gentherapeutika-node.html> [17.02.2023].)

Durchbrüche waren u.a. die Fortschritte im Bereich unterschiedlicher Gentransfervektoren („Gentaxis“), die daher einigen Raum im vorliegenden Band einnehmen. Beispielhaft dargestellt sind hier die Arbeiten zu retroviralen (Morgan et al., Kap. 3), AAV- (Jäschke/Büning, Kap. 4), Transposon- (Nurieva et al., Kap. 5) und nichtviralen Vektoren (Aigner, Kap. 6). Auch im Bereich der onkolytischen Viren haben mehrere deutsche Gruppen grundlegende Arbeiten geleistet, die im Rahmen des vorliegenden Bandes leider nicht dargestellt werden konnten. Der interessierte Leser sei hier auf den sehr informativen Übersichtsartikel von Nettelbeck et al. (2021) verwiesen.

Umso ärgerlicher ist es, dass Deutschland (wie auch der gesamte EU-Raum) bei der klinischen Umsetzung der präklinischen Forschungsergebnisse inzwischen deutlich in Rückstand geraten ist, sowohl hinter den USA als auch der VR China.

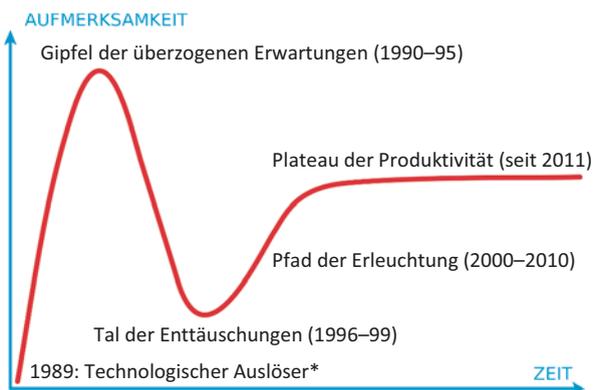


Abb. 2.1 Hype-Zyklus der Gentherapie (nach Gartner)

*Als technologischer Auslöser für die klinische Anwendung der Gentherapie kann die Etablierung effizienter Methoden des permanenten Gentransfers mithilfe retroviraler Vektoren gelten – wichtige Arbeiten in diesem Bereich wurden am Hamburger Heinrich-Pette-Institut (heute Leibniz-Institut für Virologie) in der Gruppe von Wolfram Ostertag geleistet. (Quelle: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Gartner_Hype_Cycle.svg [26.06.2023], CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=7560534> [26.06.2023].)

Auf die vielfältigen Gründe dafür wird in mehreren der Kapitel eingegangen, eine größere Übersichtsarbeit, die sich auch diesem Thema widmet, wurde kürzlich von der DG-GT publiziert (Büning et al. 2021) und liegt auch in einer deutschen Fassung als Whitepaper vor.¹⁰ Das Problem wurde inzwischen auch von der Politik erkannt. Ende 2022 beauftragte der Deutsche Bundestag das Berlin Institute of Health (BIH), ein Translationszentrum für Zell- und Gentherapie aufzubauen. Diese Initiative befindet sich inzwischen in der Umsetzung.

2.3 Zelltherapie

Der Beginn der Zelltherapie lässt sich auf das Jahr 1957 datieren, als von einem Atomunfall Betroffenen die ersten Blutstammzellen aus dem Knochenmark gesunder Spender infundiert wurden. Die damals erstmals benutzte Methode der Knochenmark- bzw. Blutstammzelltransplantation (HSCT) entwickelte sich in den Folgejahren zu einem Standard für die Behandlung verschiedener, anderweitig unheilbarer Blutkrebserkrankungen wie auch angeborener Erkrankungen der Blutbildung (siehe Kolb/Fehse, Kap. 11). Während die HSCT aufgrund ihrer Risiken anfangs nur bei relativ jungen und fitten Patienten eingesetzt werden konnte, ermöglichte die stetige Verbesserung der Methode und vor allem der unterstützenden Therapien, die Ausschlusskriterien immer weiter zu minimieren. So kommt die HSCT heute z. B. auch erfolgreich bei schweren Autoimmunkrankheiten zum Einsatz.

¹⁰ Siehe unter: https://d6a27bf6-9c2f-4d3f-8359-1cb2d86b3d4d.usrfiles.com/ugd/d6a27b_7aae90639c584ac584e632121e96b499.pdf [28.06.2023].

Mit dem zunehmenden Verständnis der Mechanismen, die dem Erfolg der HSCT bei Krebserkrankungen zugrunde liegen, wurde die essenzielle Rolle des Immunsystems immer deutlicher. Darauf basierend entwickelte unser Autor Hans-Jochem Kolb Ende der 1980er-Jahre das Prinzip der adoptiven Immuntherapie mit Spenderimmunzellen. Seit man um die eindrucksvolle Durchschlagskraft der Immunzellen bei der Krebsbekämpfung weiß, wurde immer wieder versucht, krebspezifische Immunzellen aus dem Blut oder Tumoren von Krebspatienten zu isolieren und zu vermehren. Da ein solcher rein zelltherapeutischer Ansatz extrem aufwendig und nur selten erfolgreich war, sucht man nach alternativen Wegen, solche krebspezifischen Zellen herzustellen. Eine schon seit mehr als 30 Jahren verfolgte Vision bestand darin, die Immunzellen mit einem gezielt eingebrachten Rezeptor gegen die Krebszellen scharf zu machen, um so deutlich schneller und einfacher an ausreichend viele krebstötende Zellen zu kommen. Seinen Durchbruch erreichte dieser Ansatz mit den schon oben zitierten CAR-T-Zellen, die sich inzwischen bei bestimmten Krebsarten zum Standard entwickeln und für diese voraussichtlich sogar die HSCT ablösen werden. In Europa sind bereits sechs verschiedene CAR-T-Zellen zugelassen (siehe Tab. 2.2), zudem auch ein genetisch nicht modifiziertes T-Zellprodukt zur Behandlung schwerer EBV-Infektionen (siehe Tab. 2.3). Umgekehrt können Zelltherapien auch helfen, überschießende und damit gefährliche Immunreaktionen zu bekämpfen. Dies wurde z. B. für mesenchymale Stromazellen (MSC) gezeigt. Ein auf MSC basierendes, in Deutschland entwickeltes Produkt (Obnitix®) wurde für die Behandlung der akuten, steroid-refraktären Spender-gegen-Wirt-Krankheit („graft-versus-host disease“, GvHD) zugelassen (siehe Tab. 2.3).

Eine weitere Vision der Zelltherapeuten besteht seit vielen Jahren darin, kranke Gewebe oder sogar Organe durch Zelltransplantate ersetzen zu können. Dieser Bereich der Transplantationsmedizin, der auch als regenerative Medizin bezeichnet wird, hat mit der breiten Verfügbarkeit unterschiedlicher Arten von Stammzellen – sowohl (adulter) multipotenter als auch pluripotenter Stammzellen einen enormen Entwicklungsschub bekommen. Bereits heute sind in Deutschland mehrere auf Stammzellen basierende Zell- bzw. Gewebeprodukte lizenziert (siehe Tab. 2.3).¹¹ Aktuelle Zulassungen beziehen sich vor allem auf regenerative Ansätze im Bereich von Gelenkschädigungen, aber auch auf die Beschleunigung bzw. Verbesserung der Wundheilung. Wie in den Kap. 13 (Zimmermann et al.) und 14 (Besser et al.) ausführlich dargestellt, befinden sich eine Reihe weiterer auf Stammzellen basierender Therapieansätze in zum Teil bereits fortgeschrittenen Stadien der klinischen Prüfung, u. a. zur Behandlung akuter Herzinfarkte, degenerativer Netzhauterkrankungen, die zu allmählicher Erblindung führen, wie auch von Muskelschwund- und Diabetes-Erkrankungen.

Gerade auch im Bereich der regenerativen Medizin eröffnen sich durch zusätzliche genetische Veränderungen, insbesondere per Genome-Editing, völlig neue

¹¹ Ein biotechnologisch bearbeitetes Gewebeprodukt („tissue engineered product“, TEP) ist ein biologisches Arzneimittel, das biotechnologisch bearbeitete Zellen oder Gewebe enthält oder aus ihnen besteht. Es dient der Regeneration, der Wiederherstellung oder zum Ersatz menschlichen Gewebes.

Tab. 2.3 In Deutschland zugelassene somatische Zelltherapeutika sowie biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte (TEP)

Produkt	Art der Zellen	Ziel der Therapie	Zulassung
Alofisel®	Allogene mesenchymale Stammzellen	Regenerativ: Analfistel bei Morbus Crohn (Unterstützung der Abheilung durch Freisetzung von Botenstoffen)	23.03.2018 (EMA)
AMESANAR®	Allogene ABCB5-positive mesenchymale Stromazellen	Regenerativ: Unterstützung der Heilung chronischer Wunden, vor allem bei chronisch-venöser Insuffizienz	04.04.2022 (national, PEI)
Ebvallo®	allogene EBV-spezifische T-Zellen	Immuntherapie: Behandlung Epstein-Barr-Virus-positiver lymphoproliferativer Posttransplantationserkrankung (EBV + PTLD)	16.12.2022 (EMA)
TEP^a			
BioSeed®-C	Trägergekoppeltes autologes 3D-Chondrozyten-transplantat	Regenerativ: Behebung symptomatischer, definierter Knorpeldefekte des Knies bei Erwachsenen durch intraartikuläre Transplantation	04.06.2014 (national, PEI)
co.don chondrosphere®	Sphäroide ^b aus autologen matrixassoziierten Chondrozyten	Regenerativ: Behebung symptomatischer, definierter Knorpeldefekte des Knies bei Erwachsenen und körperlich ausgewachsenen Jugendlichen durch intraartikuläre Transplantation	12.12.2013 (national, PEI)
Holoclar®	Ex vivo expandierte autologe menschliche Hornhautepithelzellen, die Stammzellen enthalten	Regenerativ: Wiederherstellung der Augenoberfläche (Hornhaut), die durch Verbrennung oder Verätzung beschädigt wurde	17.02.2015 (EMA)
NOVOCART® 3D	Trägergekoppeltes autologes 3D-Chondrozytentransplantat	Regenerativ: Behebung symptomatischer, definierter Knorpeldefekte des Knies bei Erwachsenen (< 50 Jahre) und körperlich ausgewachsenen Jugendlichen durch intraartikuläre Transplantation	29.08.2014 (national, PEI)
NOVOCART® Inject	2 Komponenten: (A) Autologe Chondrozyten und (B) Quervernetzer, in situ bildet sich ein Chondrozyten-Gel	Regenerativ: Behebung symptomatischer, definierter Knorpeldefekte des Knie- oder Hüftgelenks bei Erwachsenen (< 50 Jahre) und körperlich ausgewachsenen Jugendlichen durch intraartikuläre Transplantation	27.06.2016 (national, PEI)

(Fortsetzung)

Tab. 2.3 (Fortsetzung)

Produkt	Art der Zellen	Ziel der Therapie	Zulassung
Obnitix®	Allogene mesenchymale Stromazellen	Immunmodulatorisch: Akute, steroid-refraktäre Spendergegen-Wirt-Krankheit nach allogener Stammzelltransplantation	24.08.2016 (national, PEI)
Spherox®	Sphäroide aus autologen Matrix-assoziierten Chondrozyten	Regenerativ: Behebung symptomatischer, definierter Knorpeldefekte des Knies bei Erwachsenen (18–50 Jahre) durch intraartikuläre Transplantation	10.07.2017 (EMA)
t2c001	Autologe Stammzellzubereitung aus Knochenmark	Regenerativ: Zur kardiovaskulären Geweberegeneration, z. B. nach akutem Myokardinfarkt	31.03.2013 (national, PEI)

^aBei den aufgeführten Produktnamen handelt es sich i. d. R. um geschützte Warenzeichen.

^bSphäroide sind kugelförmige Aggregate.

(Quellen: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/zelltherapeutika/somatische-zelltherapeutika-node.html> [07.02.2023], <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/tep/tep-node.html> [17.02.2023].)

Möglichkeiten für die Entwicklung sowohl individuell maßgeschneiderter als auch breit anwendbarer Gewebe- bzw. Organersatztherapien. Dies führt uns zurück zum Ausgangspunkt dieser Einleitung – sowohl bei Zell- als auch bei Gentherapien ist es heute unbedingt notwendig, die Möglichkeiten, die das andere Feld bietet, immer gleich mitzudenken.

Abschließend sei erwähnt, dass Herausgeber und Autoren natürlich nicht den Anspruch erheben, im vorliegenden Themenband alle aktuellen Entwicklungen abgebildet und alle Protagonisten genannt zu haben. Wir hoffen aber, dass wir der Breite und Dynamik des Feldes trotzdem gerecht werden und sein enormes Potenzial für die zukünftige Patientenversorgung aufzeigen konnten.

Literatur

- Bartfeld S et al (Hrsg) (2020) Organoide. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft. Nomos, Baden-Baden
- Büning H et al (2021) Gene therapy „made in Germany“: a historical perspective, analysis of the status quo, and recommendations for action by the German Society for Gene Therapy. *Hum Gene Ther* 32(19–20):987–996
- Fehse B et al (Hrsg) (2021) Fünfter Gentechnologiebericht. Sachstand und Perspektiven für Forschung und Anwendung. Nomos, Baden-Baden.
- Fehse B, Abramowski-Mock U (2021) Anwendung des Genome Editing in der somatischen Gentherapie. Springer, Wiesbaden
- Fehse B, Domasch S (Hrsg) (2011) Gentherapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Forum W – Wissenschaftlicher Verlag, Dornburg

- Fehse B et al (2011) Stand wissenschaftlicher und medizinischer Entwicklungen. In: Gentherapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Forum W, Dornburg, S 41–126
- Hucho F et al (Hrsg) (2018) Vierter Gentechnologiebericht. Bilanzierung einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden.
- Hucho F et al (Hrsg) (2005) Gentechnologiebericht. Bilanzierung einer Hochtechnologie in Deutschland. Elsevier Spektrum, München
- Müller-Röber B et al (Hrsg) (2015) Dritter Gentechnologiebericht. Analyse einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden
- Müller-Röber B et al (Hrsg) (2009) Zweiter Gentechnologiebericht. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Forum W, Dornburg
- Nettelbeck DM et al (2021) Virotherapy in Germany—recent activities in virus engineering, preclinical development, and clinical studies. *Viruses* 13(8):1420
- Terheggen HG et al (1975) Unsuccessful trial of gene replacement in arginase deficiency. *Z Kinderheilkd.* 119(1):1–3
- Zenke M et al (Hrsg) (2018) Stammzellforschung – Aktuelle wissenschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Nomos, Baden-Baden

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Teil I

Vektoren und Technologieentwicklung

Retrovirale Vektoren – Effiziente Gentaxis für unterschiedliche Gentherapien

3

Michael A. Morgan, Melanie Galla, Boris Fehse und Axel Schambach

3.1 Einleitung

Die genetische Information, die als Bauplan für das menschliche Leben dient, ist in der chromosomalen DNA eines jeden Zellkerns und in der DNA unserer zellulären Kraftwerke, den Mitochondrien, gespeichert. Im menschlichen Körper ist die Expression der Gene gut reguliert und ihr orchestriertes Zusammenspiel erlaubt die Spezialisierung unserer Zellen und Gewebe. Gemäß dem Grundprinzip der Biologie wird während der Genexpression die genetische Information von der stabilen DNA-Form in eine transiente Informationsstruktur, die RNA, umgeschrieben. Es existiert eine Reihe unterschiedlicher Arten von RNA mit verschiedensten Funktionen in der Zelle.¹ Insbesondere kann die sog. „messenger“ oder Boten-RNA (mRNA) in Proteine übersetzt werden, die den verschiedenen Zelltypen in unserem Körper ihre morphologischen, physiologischen und funktionellen Eigenschaften, den sog. Phänotyp, verleihen (siehe Abb. 3.1). Für die Steuerung der Genexpression sind bestimmte genetische Strukturen und Elemente erforderlich, die als Promotoren und Enhancer-Sequenzen² bezeichnet werden. Mithilfe solcher Elemente ist es auch möglich, künstlich zu steuern, wie hoch oder niedrig ein Gen exprimiert wird,

¹Ausführlich in: Fehse et al. 2022.

²„Enhancer“ bedeutet Verstärker.

M. A. Morgan · M. Galla · A. Schambach (✉)
Institut Experimentelle Hämatologie, Medizinische Hochschule Hannover,
Hannover, Deutschland
e-mail: Schambach.Axel@mh-hannover.de

B. Fehse
Forschungsabteilung Zell- und Gentherapie, Klinik für Stammzelltransplantation,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE),
Hamburg, Deutschland

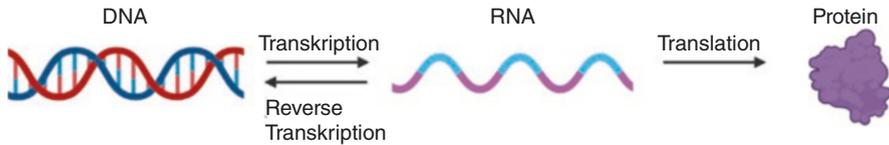


Abb. 3.1 Zentrales Dogma der Molekularbiologie

Die genetische Information wird in einer stabilen Form, der Desoxyribonukleinsäure (DNA), gespeichert, die repliziert werden kann, um Kopien von sich selbst zu erstellen, z. B. bei der Zellteilung, und/oder in ein flüchtiges Biomolekül, die Ribonukleinsäure (RNA), umgeschrieben wird. RNA kann durch die Wirkung eines Enzyms namens Reverse Transkriptase zur Erzeugung von DNA verwendet werden. Verschiedene RNA-Moleküle können sehr unterschiedliche Funktionen ausführen (Fehse et al. 2022). Boten- (bzw. „messenger“-)RNA kann in Proteine übersetzt („translatiert“) werden. Abbildung mit [Biorender.com](https://www.biorender.com) erstellt

und auch ein Gen in bestimmten Zelltypen an- oder auszuschalten. Dieses Wissen über Genstruktur und -expression wird für medizinische Zwecke wie die Gentherapie genutzt.

Die Gentherapie ist ein molekularmedizinischer Ansatz, der zur Behandlung von Patienten mit angeborenen Krankheiten, die z. B. durch Gendefekte bei monogenen Erbkrankheiten verursacht werden, eingesetzt werden kann. Aber auch erworbene Erkrankungen wie z. B. Krebs oder schwere Infektionen können durch gentherapeutische Ansätze behandelt werden. Hierbei kann die Expression eines fehlenden oder defekten Gens durch das Hinzufügen einer „gesunden“ Genkopie korrigiert werden, was als additive Gentherapie bezeichnet wird. Aber auch die direkte Reparatur von Genen oder die Entfernung von krankheitsverursachenden Genen ist heutzutage möglich.

Mit der Aufklärung des humanen Genoms konnten für viele monogene Erbkrankheiten³ die zugrunde liegenden Gendefekte (Mutationen) identifiziert werden, die zum Verlust von Proteinen oder zur Produktion veränderter Proteine und dadurch zur Entstehung der jeweiligen Krankheit führen. Einige Beispiele für solche Erkrankungen sind schwere kombinierte Immundefekte (SCID),⁴ das Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS), die chronische Granulomatose (CGD), die zerebrale Adrenoleukodystrophie (CALD), die metachromatische Leukodystrophie (MLD), Hämoglobinopathien wie β -Thalassämie und Sichelzellerkrankheit (SCD)⁵ sowie die blasenbildende Erkrankung Epidermolysis bullosa. Beispielhafte Ergebnisse aus Gentherapieversuchen werden später in diesem Kapitel für einige dieser monogenen Erkrankungen vorgestellt.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, therapeutische Gene in Zellen zu übertragen, um Krankheiten wie die genannten zu behandeln. Ein gängiger Ansatz ist die Nutzung der natürlichen Fähigkeit von Retroviren, ihre eigene Erbinformation stabil in das Genom menschlicher Zellen zu integrieren. Retroviren haben eben-

³Für einen Katalog humaner Gene und genetischer Erkrankungen siehe unter: <https://www.omim.org/> [12.04.2023].

⁴„Severe combined immunodeficiency“.

⁵„Sickle cell disease“.

falls einen genetischen Bauplan, der jedoch im Gegensatz zu dem des Menschen nicht aus DNA, sondern aus RNA besteht. Dieser RNA-Bauplan codiert für bestimmte virale Strukturproteine, die zum Schutz und zur Einschleusung der viralen RNA in die Zielzelle notwendig sind. Des Weiteren codiert sie für die Reverse Transkriptase, die das Virus nach dem Eintritt in die Zielzelle zum Umschreiben des viralen RNA-Genoms in eine virale DNA nutzt. Letztere wird dann mithilfe eines weiteren Enzyms, der Integrase, in das Genom der Zielzelle eingebaut, woran sich dann die Produktion neuer infektiöser Viruspartikel anschließt. Im Rahmen der Entwicklung der Gentherapie wurden umfangreiche Anstrengungen unternommen, um aus ggf. pathogenen Retro- wie auch anderen Viren ein therapeutisches Werkzeug, den sog. Vektor,⁶ zu erstellen. Dazu werden die Viren so modifiziert,⁷ dass sie ihre Pathogenität und ihr Vermehrungspotenzial vollständig verlieren, aber noch einmalig als Transportvehikel funktionieren. Darauf aufbauend können die retroviralen Vektoren benutzt werden, um therapeutische genetische Informationen effizient in das Genom der Zielzellen einzuschleusen, sind aber nicht in der Lage, neue infektiöse Partikel zu erzeugen.⁸

In den folgenden Abschnitten werden die Beiträge deutscher Forschergruppen zur Entwicklung retroviraler Vektoren zum Transfer therapeutischer Gene, zu deren Sicherheitsanalyse sowie für ihre klinische Anwendung beleuchtet.

3.2 Die Entwicklung der retroviralen Vektortechnologie: Eine Chronologie

Die häufig in der Gentherapie verwendeten retroviralen Vektoren stammen von verschiedenen natürlichen Retroviren ab, die im Laufe von Millionen von Jahren Mechanismen für den Gentransfer entwickelt haben. So werden insbesondere Vektorsysteme auf der Basis des murinen Moloney-Leukämie-Virus (MoMLV) (sog. gammaretrovirale Vektoren) und des humanen Immundefizienz-Virus (HIV) (sog. lentivirale Vektoren) verwendet, da sie einen effizienten Gentransfer und eine stabile genetische Veränderung der Zielzellen ermöglichen. Das heißt, diese retroviralen Vektorsysteme fungieren als Gentaxis, um genetische Informationen (z. B. ein therapeutisches Gen) in die Zielzellen einzuschleusen und diese in ihren Chromosomen zu verankern, sodass sie im Falle einer Zellteilung an die Tochterzellen weitergegeben werden können. Das verfolgt das Ziel, die Funktion der Zielzelle zu reparieren oder der Zielzelle eine neue oder verbesserte Funktion zu verleihen. Eine erfolgreiche Gentherapie mit retroviralen Vektoren erfordert die

⁶Gentransfervektoren werden auch als Genfähren oder Gentaxis bezeichnet.

⁷Unter anderem werden diejenigen Gene, die für eine Virusvermehrung notwendig sind, aus dem Virusgenom entfernt.

⁸In Abgrenzung zu Viren wird der Gentransfer mit viralen Vektoren daher nicht als Infektion, sondern als Transduktion bezeichnet.

robuste Produktion angemessen hoher Mengen an funktionellen Vektorpartikeln⁹ und den effizienten Eintritt der retroviralen Partikel in die Zielzellen. Die Bindung an die Zielzelle erfolgt bei Retroviren über die Interaktion des Hüll-(Glyko-)Proteins mit einem perfekt passenden Molekül (Rezeptor) auf der Zelloberfläche. Im Zuge der Vektorisierung der Retroviren konnte gezeigt werden, dass sich die ursprünglichen Hüllproteine auch gegen Hüllproteine anderer Viren austauschen lassen. Dieses Verfahren, das man Pseudotypisierung nennt, ermöglicht es u. a., stabilere Viruspartikel herzustellen, die auch andere Zielzellen¹⁰ modifizieren können als das Ursprungsvirus.¹¹ Weiterhin ist das Erreichen von möglichst physiologischen Transgenexpressionsniveaus wichtig, die hoch genug sind, um eine therapeutische Wirkung ohne unerwünschte Genotoxizität oder Phänotoxizität¹² zu erzielen.

Die bahnbrechenden Arbeiten zur Charakterisierung und Vektorisierung von MoMLV-Viren (d. h. gammaretroviralen Vektoren) stammen aus dem Heinrich-Pette-Institut¹³ in Hamburg und basieren auf Arbeiten von Pionieren wie Rudi Jaenisch, Wolfram Ostertag, Manuel Grez und Christopher Baum (Jaenisch et al. 1983; Hilberg et al. 1987). Erste gammaretrovirale Vektorsysteme nutzten zur Expression des jeweiligen therapeutischen Gens die natürlich vorkommenden viralen Promotor- sowie Enhancer-Elemente, die sich in den Long Terminal Repeats (LTR) des Virus befinden und als LTR-gesteuerte Vektoren bezeichnet werden. So basierte z. B. das häufig verwendete murine Stammzellvirus (Hawley et al. 1992) auf dem murinen embryonalen Stammzellvirus (MESV), das zuerst im Ostertag-Labor kloniert worden war (Grez et al. 1990). Weitere Bemühungen, die die Optimierung gammaretroviraler Vektorsysteme zur Erreichung hoher und stabiler Transgenexpressionsniveaus in einer Vielzahl von Zelltypen zum Ziel hatten und die für die therapeutische Wirksamkeit als notwendig erachtet wurden, umfassten die Erforschung genetischer Elemente, die die Transkription und Expression von Transgenen in Zielzellen beeinflussen, sowie die Entwicklung gammaretroviraler Vektor-konfigurationen mit verbesserter Transgenexpression (Baum et al. 1995, 1996, 1998; Hildinger et al. 1998). Die Eliminierung von viruscodierenden Sequenzen führte ebenfalls zu einer verbesserten Transgenexpression (Engels et al. 2003) und diente auch als Maßnahme zu einer erhöhten Sicherheit in den Patienten. In Proof-of-Concept-Experimenten wurde gezeigt, dass diese retroviralen Vektoren zur Expression des Multidrug-Resistance-Proteins 1 (*mdr-1*) in hämatopoetischen, d. h.

⁹Die Konzentration funktioneller Vektorpartikel in einer geeigneten Flüssigkeit wird als Vektortiter bezeichnet.

¹⁰Z. B. kann das HI-Virus nur bestimmte Immunzellen infizieren, die das CD4-Molekül tragen, das HIV als Rezeptor dient. Eine solche enge Spezifität würde die Nutzbarkeit lentiviraler Vektoren stark einschränken.

¹¹Ausführlich in Abschn. 3.3.

¹²Genotoxizität ist der negative Einfluss auf genetische Strukturen bzw. deren Funktionen. Phänotoxizität ist die Manifestation der Nebenwirkungen in der Funktion und/oder Struktur der betroffenen Zelle.

¹³Seit 2022: Leibniz-Institut für Virologie.

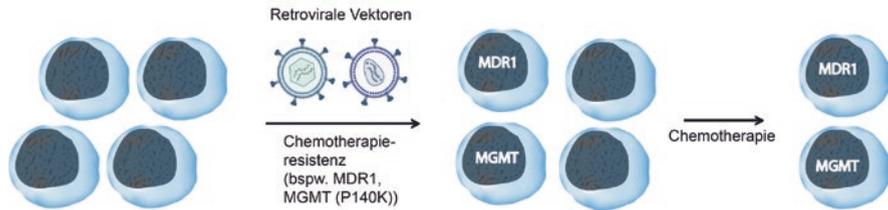


Abb. 3.2 Durch retrovirale Vektoren veränderte Zellen werden resistent gegen Chemotherapie. Die Modifizierung von Zellen zur Expression des Multidrug-Resistenzproteins MDR1 oder der Methylguanin-Methyltransferase P140K-Mutante (MGMT P140K) führt zu einer verbesserten Resistenz gegenüber bestimmten Chemotherapeutika, sodass nur die geschützten (d. h. mit MDR1 oder MGMT markierten) Zellen bei einer medikamentösen Behandlung überleben. Die retroviralen Partikel wurden mit Biorender.com erstellt.

blutbildenden, Vorläuferzellen verwendet werden können, um eine breitere Anwendung der Chemotherapie bei Krebspatienten zu ermöglichen, ohne toxische Nebenwirkungen für das hämatopoetische System (Baum et al. 1995, 1996) (siehe Abb. 3.2).

Leider kam es in einigen Studien, in denen LTR-gesteuerte Vektoren verwendet wurden, um therapeutische Gene in hämatopoetische Stammzellen (HSC) einzubringen, zum Auftreten von Leukämien. Diese schwere Nebenwirkung wurde zuerst in Deutschland in Mausmodellen beobachtet und detailliert analysiert (Li et al. 2002; Baum et al. 2003, 2006; Kustikova et al. 2005), trat aber kurze Zeit später auch in klinischen Studien mit HSC auf (siehe Abschn. 3.5). Sehr wichtig für die spätere klinische Anwendung waren weitere, ebenfalls in Deutschland durchgeführte Studien, die zeigten, dass für analoge LTR-getriebene Vektoren das Risiko solcher maligner Entartungen in differenzierten somatischen Zellen, wie z. B. T-Zellen, deutlich geringer ist (Newrzela et al. 2008, 2012).

Die durch die Insertion (Integration) des LTR-gesteuerten gammaretroviralen Gentherapievektors hervorgerufene maligne Transformation von HSC wurde auf eine sog. Insertionsmutagenese zurückgeführt. Dabei kommt es in seltenen Fällen infolge der Insertion des retroviralen Vektors zur Dysregulation benachbarter Gene, z. B. zur Hochregulation der Expression sog. Proto-Onkogene¹⁴ durch die starken Promotoren und Enhancer des viralen Vektors (Hacein-Bey-Abina et al. 2003; Ott et al. 2006; Deichmann et al. 2011).

Heute werden in der klinischen retroviralen Gentherapie sicherheitsverbesserte retrovirale Vektorsysteme, sog. selbstinaktivierende (SIN-)Vektoren, verwendet, bei denen die starken viralen Promotoren und Enhancer aus den LTRs entfernt wurden, um das Risiko solcher unerwünschter Ereignisse zu minimieren (Yu et al. 1986). Weiterhin erlaubt dieses Vektordesign eine flexible Auswahl der internen Promotor-

¹⁴Bei Proto-Onkogenen bzw. potenziell krebsfördernden Genen handelt es sich um Gene, die für wichtige regulatorische Proteine codieren, die z. B. den Zellteilungszyklus überwachen. Mutationen in diesen Genen oder eine zu starke Expression können zu Störungen führen, sodass z. B. die Zellteilung aus dem Ruder läuft.

und Enhancer-Sequenzen. Die Prinzipien zur Herstellung gammaretroviraler SIN-Vektoren (Yu et al. 1986) wurden auch erfolgreich auf lentivirale Vektoren übertragen (Naldini et al. 1996; Zufferey et al. 1998). Tatsächlich legen neuere Ergebnisse aus klinischen Genterapiestudien nahe, dass die Nutzung von SIN-Vektoren das Auftreten der Insertionsmutagenese deutlich reduziert (Cartier et al. 2009; Cavazzana-Calvo et al. 2010; Aiuti et al. 2013; Biffi et al. 2013; Hacein-Bey-Abina et al. 2014, 2015; Sessa et al. 2016).

Internationale Wissenschaftler wie Luigi Naldini, Didier Trono und Kollegen leisteten zahlreiche Beiträge zur Entwicklung lentiviraler Vektoren mit verbesserter Sicherheit, einschließlich der Vereinfachung lentiviraler Vektoren durch Eliminierung zusätzlicher Sequenzen, die für den Transgentransfer nicht entscheidend sind (Zufferey et al. 1997; Dull et al. 1998). Ein Unterschied zu gammaretroviralen Vektoren besteht darin, dass lentivirale Vektoren auch Zellen transduzieren, die sich nicht in Zellteilung befinden (Bukrinsky et al. 1993). Lentivirale SIN-Vektorsysteme sind derzeit das am weitesten verbreitete integrierende Vektorsystem (Tucci et al. 2022) und werden in Deutschland wie auch international in mehreren klinischen Anwendungen eingesetzt (siehe Abschn. 3.4).

3.3 Der gesteuerte Zelleintritt ist ein Schlüssel zum zielgerichteten Gentransfer: die Pseudotypisierung von Vektoren

Wie oben angeschnitten nutzen Retroviren die Interaktion zwischen Glykoproteinen auf der Virushülle (ihren Hüll- oder Envelope-Proteinen) und spezifischen Rezeptoren auf der Oberfläche der zu infizierenden Zelle für die Bindung an die Zielzelle. Daher kann die Wahl des Glykoproteins, das zur Pseudotypisierung retroviraler Vektoren verwendet wird, den Zelleintritt der Genföhre in die Zielzellpopulation steuern. Die heute am häufigsten in retroviralen Genterapieprotokollen verwendeten Glykoproteine wurden aus anderen Viren isoliert, z. B. aus dem Gibbon-Affen-Leukämie-Virus (GALV) und dem Vesikulären Stomatitis-Virus G (VSV-G). Retrovirale Vektoren, die mit dem VSV-G-Protein pseudotypisiert sind, weisen eine höhere Stabilität auf und können ein breiteres Spektrum von Zelltypen transduzieren (Burns et al. 1993); mit der GALV-Hülle pseudotypisierte Vektoren modifizieren besonders effizient primäre menschliche T-Zellen (Bunnell et al. 1997; Fehse et al. 1998) und HSC. Darüber hinaus erwiesen sich Glykoproteine des lymphozytären Choriomeningitis-Virus (Beyer et al. 2002; Miletic et al. 2004), des Masern- und des Nipah-Virus als nützlich, da mit ihnen sogar ein zellspezifisches Targeting möglich ist (Funke et al. 2008; Buchholz et al. 2015; Bender et al. 2016; Agarwal et al. 2020; Hartmann et al. 2018; Kneissl et al. 2013; Kleinlutzum et al. 2017; Hanauer et al. 2018). Zellspezifische Vektoren sind insbesondere für In-vivo-Genterapien von großer Bedeutung, bei denen die eigentlichen Zielzellen möglichst effizient modifiziert, andere Gewebe aber ausgespart werden sollen.

3.4 Stabile therapeutische Genexpression durch Integration ins Zellgenom

Die stabile Integration der Vektoren in das Wirtsgenom (und damit die Weitergabe an Tochterzellen im Rahmen der Zellteilung) ist für den langfristigen Erfolg vieler gentherapeutischer Ansätze essenziell. In solchen Fällen sind gammaretrovirale und lentivirale Vektoren oft die erste Wahl der Gentherapeuten. Allerdings ist die Integration bei retroviralen Vektoren nicht steuerbar, erfolgt also weitgehend zufällig. Im Ergebnis sind die Insertionsstellen der Viren (über alle Zellen betrachtet) weitgehend gleichmäßig über alle Chromosomen verteilt.¹⁵ Zu beachten ist jedoch, dass Retroviren ein evolutionäres „Eigeninteresse“ haben, in solche Bereiche des Genoms zu integrieren, die für ihre eigene Vermehrung förderlich sind. Das trifft vor allem auf „offene Genombereiche“ zu, also solche, in denen sich in der jeweiligen Zelle aktive Gene befinden. So kann das Virus sicherstellen, dass auch die eigenen Gene langfristig abgelesen (und nicht etwa dauerhaft stillgelegt) werden.

Die von Retroviren abgeleiteten Vektoren haben die Vorlieben für bestimmte Integrationsorte geerbt – gammaretrovirale Vektoren fügen sich häufiger in Transkriptionsstartstellen ein, also in Nachbarschaft zu den Promotoren, und lentivirale Vektoren in aktiv transkribierte Gene.¹⁶ Verschiedene zelluläre Faktoren, die sog. Tethering-Faktoren, scheinen gemeinsam mit retroviralen Integrasen die Insertion von gammaretroviraler oder lentiviraler Vektor-DNA in das Wirtsgenom zu steuern (Cherepanov et al. 2003; De Rijck et al. 2013; Gupta et al. 2013; Sharma et al. 2013; El Ashkar et al. 2014, 2017).

Wie oben angeführt kann die Integration retroviraler Vektoren, insbesondere, wenn sie in der Nähe von Proto-Onkogenen erfolgt, mit Risiken behaftet sein. Daher werden weiterhin viele Ressourcen für den Nachweis und die Charakterisierung von Insertionsstellen retroviraler Vektoren sowie für die Entwicklung von verbesserten Tests zur Bewertung der biologischen Sicherheit aufgewendet. Viele dieser Technologien wurden maßgeblich von deutschen Gruppen entwickelt, wie z. B. die Techniken der LM-PCR („ligation-mediated polymerase chain reaction“) (Schmidt et al. 2001) und der LAM-PCR (Kustikova et al. 2008, 2009) in Verbindung mit Fortschritten bei genetischen Sequenzierungsprotokollen (Arens et al. 2012; Wunsche et al. 2018). So konnte die Analyse der retroviralen Insertionsstellen weiter verbessert werden und hilft dabei, potenzielle Nebenwirkungen der Gentherapie besser zu verstehen. Sie wird inzwischen routinemäßig für die präklinische Sicherheitsbetrachtung und zur Überwachung klinischer Studien eingesetzt (Schmidt et al. 2001; Schwarzwaelder et al. 2007; Deichmann et al. 2007).¹⁷

¹⁵ Im Genom jeder einzelnen Zelle finden sich i. d. R. nur eine oder wenige Vektorinsertionen. Im Rahmen der Gentherapie wird die Zahl der Insertionen aus Sicherheitsgründen bewusst gering gehalten (vgl. Fehse et al. 2004b).

¹⁶ Man spricht daher auch von „halbzufälliger“ („semi-random“) Integration.

¹⁷ Im Rahmen der Gentherapie werden i. d. R. Hunderte Millionen modifizierter Zellen infundiert. In jeder einzelnen Zelle hat der Vektor seine eigene Insertionsstelle. Dies illustriert, wie komplex es ist, alle Insertionsstellen zu kartieren.

Während die ersten Studien zum Nachweis der Insertionsmutagenese in Mausmodellen erfolgten, steht mit dem In-vitro-Immortalisierungssassay (IVIM) heute ein (ebenfalls in Deutschland entwickelter) Test zur Verfügung, der die potenziellen Nebenwirkungen retroviraler Vektoren (maligne Transformation muriner Knochenmarkzellen) im Brutschrank analysiert (Modlich et al. 2006; Stein et al. 2013; Wolstein et al. 2014; Negre et al. 2015; Brendel et al. 2018; Poletti et al. 2018; Charrier et al. 2019; Garcia-Perez et al. 2020; Huang et al. 2016, 2017; Moscatelli et al. 2018). Dieser Test wird von den internationalen Zulassungsbehörden, z. B. PEI, EMA, MHRA, FDA,¹⁸ zur Bewertung des Transformationspotenzials von Vektoren akzeptiert, die zur Behandlung monogener und erworbener Krankheiten entwickelt wurden. Ein kürzlich in Hannover entwickelter Surrogat-Assay für die Bewertung der Genotoxizität (SAGA) zur Vorhersage des mutagenen Risikos integrierter retroviraler Vektoren nutzt maschinelles Lernen, um eine einzigartige Genexpressions-signatur in hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen (HSPC) der Maus nach Transduktion mit den potenziell genotoxischen Vektoren zu erkennen (Schwarzer et al. 2021).

Zusätzlich zu den gammaretroviralen und lentiviralen Vektorsystemen wurde vor Kurzem in Hannover ein alpharetrovirales SIN-Vektorsystem entwickelt,¹⁹ das auf dem aus Vögeln isolierten aviären Sarkom-Leukose-Virus (ASLV) basiert. Alpharetrovirale Vektoren weisen in Säugerzellen ein im Vergleich zu den genannten Vektoren neutraleres Integrationsmuster²⁰ auf (Suerth et al. 2010, 2012; Moiani et al. 2014). IVIM-Tests zeigten außerdem, dass alpharetrovirale SIN-Vektoren mit internen Promotoren zur Steuerung der Transgenexpression im Vergleich zu gamma-retroviralen und lentiviralen SIN-Vektoren weniger Transformationsereignisse in Knochenmarkzellen von Mäusen verursachten (Suerth et al. 2012), sodass sie eine interessante Alternative für zukünftige Gentherapiestudien darstellen.

Ein weiteres integrierendes Vektorsystem basiert auf dem apathogenen Foamy-Retrovirus, das ein relativ zufälliges Integrationsmuster aufweist und für das in einem humanisierten CD34-positiven-Zelltransplantationsmodell gezeigt werden konnte, dass es weniger häufig in der Nähe von Genen und insbesondere Proto-Onkogen-Transkriptionsstartstellen integriert (Lindemann und Rethwilm 2011; Everson et al. 2016). Die direkte In-vivo-Verabreichung von Foamy-Vektoren hat gezeigt, dass sie die schwere kombinierte Immundefizienz SCID-X1 bei Hunden korrigieren konnten (Burtner et al. 2014).

Nichtintegrierende retrovirale Vektoren sind ein weiteres interessantes Werkzeug für die klinische Umsetzung. Die gezielte Modulation bestimmter Schritte des retroviralen Lebenszyklus ermöglicht die Herstellung nichtintegrierender Vektoren, mit denen (a) zirkuläre 1- und 2-LTR-Episomen, (b) retrovirale oder nichtvirale mRNAs

¹⁸EMA: European Medicines Agency, MHRA: Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (UK), FDA: Food and Drug Administration (USA).

¹⁹Autor Axel Schambach gibt einen Interessenkonflikt an, da er ein Co-Erfinder eines Patents zu alpharetroviralen SIN-Vektoren ist.

²⁰Die Integrationen erfolgen über das gesamte Genom verteilt mit weniger Vorliebe für aktive Gene bzw. Promotorregionen.

und (c) bestimmte Proteine auf Zielzellen übertragen werden können. Dies sind interessante Werkzeuge für Situationen, in denen ein „Hit-and-Run“-Ansatz wünschenswert sein könnte, z. B. für die vorübergehende Expression einer Designer-nuklease oder -Rekombinase, um im Sinne des Genome-Editing eine Genomveränderung zu vermitteln (Galla et al. 2004, 2011; Philpott und Thrasher 2007; Voelkel et al. 2010; Maeder und Gersbach 2016; Baron et al. 2022; Gurumoorthy et al. 2022).

3.5 Die Gentherapie für monogene Erbkrankheiten

3.5.1 Schwere kombinierte Immundefizienz (SCID)

SCID-Patienten haben Gendefekte z. B. in der Adenosin-Deaminase (ADA) (ADA-SCID), der Interleukin-2-Rezeptor- γ -Kette (IL2RG) (SCID-X1) oder der Interleukin-7-Rezeptor- α -Kette, die zu einem Verlust oder der Nichtfunktionalität von Immunzellen (z. B. T-, NK-²¹ und B-Zellen) führen, sodass die Patienten gegen Pathogene weitgehend schutzlos sind und häufig, oft lebensbedrohliche Infektionen entwickeln. Bis vor Kurzem war die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT) die einzige heilende Behandlung für SCID. SCID-Patienten, für die kein passender Spender für eine allogene HSCT gefunden werden kann, können heute mit Gentherapien behandelt werden, für die autologe (eigene) HSPC mit korrigierten Versionen von *ADA*, *IL2RG* oder *IL7R* ausgestattet werden. Die Transduktion von HSPC mit einem LTR-gesteuerten gammaretroviralen Vektor, der im Labor von Christopher Baum entwickelt wurde, zur Expression von ADA führte – nach Versagen und Beendigung von PEG-ADA²² – zu einer stabilen Transgenexpression und polyklonalen T-Zell-Rekonstitution ohne unerwünschte Nebeneffekte (Gaspar 2006). Andere Studien lieferten weitere Belege dafür, dass LTR-gesteuerte gammaretrovirale Vektoren zur Verabreichung von ADA den normalen Purinstoffwechsel ohne vektorbedingte Nebenwirkungen bei Patienten über 13 Jahre nach der Behandlung wirksam wiederherstellten (Aiuti et al. 2009; Ferrua und Aiuti 2017). Diese Studien führten zur Marktzulassung des „Advanced Therapy Medicinal Product“ (ATMP) Strimvelis® in Europa. Orchard Therapeutics, das Unternehmen, das Eigentümer von Strimvelis ist, hat jedoch kürzlich angekündigt, dass es seine Investitionen in Strimvelis einstellen wird.²³ Diese Entscheidung könnte darauf

²¹ NK-Zellen sind natürliche Killerzellen, eine Art von weißen Blutkörperchen, die als Teil der angeborenen Immunantwort infizierte oder anormale Zellen im Körper erkennen und zerstören, um das Immunsystem zu schützen.

²² PEG (Polyethylenglykol) wird in der Medizin häufig als Hilfsstoff bei der Herstellung von Arzneimitteln eingesetzt, um deren Stabilität zu erhöhen, ihre Freisetzung zu verlängern und ihre Bioverfügbarkeit zu verbessern.

²³ Siehe unter: <https://www.biopharmadive.com/news/orchard-layoffs-restructuring-gene-therapy/621261/> [01.05.2023].

zurückzuführen sein, dass in den letzten sechs Jahren nur 16 Patienten mit Strimvelis behandelt wurden (siehe auch Alex/König, Kap. 22).

In Studien zur Behandlung einer anderen Immundefizienz (SCID-X1) wurden LTR-gesteuerte gammaretrovirale Vektoren verwendet, die das Wildtyp-IL2RG-Gen in HSPC von SCID-X1-Patienten exprimieren. Während die Immunität bei den meisten Patienten erfolgreich wiederhergestellt werden konnte, war dieser Gentherapieansatz leider mit erheblicher Genotoxizität verbunden. 30 % (6 von 20) der Patienten in zwei unabhängigen Studien entwickelten akute Leukämien aufgrund der Aktivierung der Expression von Proto-Onkogenen (z. B. *LMO2*, *CCND2*, *MECOM*) durch die Insertion gammaretroviraler Vektoren (Cavazzana-Calvo et al. 2000; Hacein-Bey-Abina et al. 2002, 2010; Gaspar et al. 2011; Cavazzana et al. 2019).²⁴

Eine anschließende multinationale Studie bei neun Jungen mit SCID-X1 zeigte die Wirksamkeit und Sicherheit eines in Hannover mitentwickelten sicherheitsverbesserten gammaretroviralen SIN-Vektors, der das IL2RG-Gen in autologe CD34-positive Zellen aus dem Knochenmark einbringt (Hacein-Bey-Abina et al. 2014).²⁵ Analysen der Insertionsstellen dieses retroviralen SIN-Vektors ergaben ein polyklonales Integrationsprofil mit einer geringeren Häufung von Insertionsstellen in der Nähe bekannter Proto-Onkogene (*LMO2*, *MECOM*) und ohne Auftreten einer Zelltransformation bei einem der bisherigen Patienten, was auf ein verbessertes Sicherheitsprofil des gammaretroviralen SIN-Vektors hindeutet (Hacein-Bey-Abina et al. 2014). Die klinische Studie diente zudem als Grundlage für eine laufende multizentrische internationale Studie zur Untersuchung der Sicherheit und Wirksamkeit eines lentiviralen SIN-Vektors bei SCID-X1-Patienten.²⁶ Nach einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 2,2 Jahren wiesen alle behandelten Patienten eine robuste Immunrekonstitution mit korrigierten T-, NK- und B-Zellpopulationen auf, ohne dass es zu gentherapiebedingten unerwünschten Ereignissen kam. Diese Beobachtung unterstützt die Ergebnisse zweier anderer kürzlich durchgeführter Studien, die ebenfalls eine Rekonstitution der T-, NK- und B-Zelllinien nach Anwendung lentiviraler SIN-Vektoren zur Behandlung von SCID-X1-Patienten zeigten (De Ravin et al. 2016; Mamcarz et al. 2019).²⁷ Dies ist auch deshalb ein großer Fortschritt, weil in früheren Studien nur eine Rekonstitution der T-Zellen beobachtet wurde.

²⁴ Erfreulicherweise ließen sich diese Leukämien bei 5 der 6 betroffenen Patienten erfolgreich therapieren.

²⁵ Siehe NCT01410019: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01410019>; NCT01175239: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01175239>; NCT01129544: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01129544> [01.05.2023].

²⁶ Siehe unter: <https://ashpublications.org/blood/article/140/Supplement%201/7770/491310/Lentiviral-Gene-Therapy-with-Low-Dose-Conditioning>; NCT03311503: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03311503> [01.05.2023].

²⁷ Siehe NCT01306019: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01306019>; NCT01512888: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01512888> [01.05.2023].

3.5.2 Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS)

WAS ist eine X-chromosomal rezessiv vererbte Krankheit, die durch immunologische Defizite mit verminderter Fähigkeit zur Blutgerinnung aufgrund einer unzureichenden Menge²⁸ und Funktion von Thrombozyten gekennzeichnet ist. Die Beobachtung, dass Mutationen im WAS-Gen („WASP actin nucleation promoting factor“), das für das zytosolische Protein WASP (Wiskott-Aldrich-Syndrom-Protein) codiert, zu WASP-Varianten mit abgeschwächter Funktion und Expression führen können, machte WAS-Patienten zu potenziellen Kandidaten für eine Gentherapie.

In der ersten in Deutschland durchgeführten Stammzellgentherapie für Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom (Boztug et al. 2010; Braun et al. 2014) wurden zehn Patienten mit autologen CD34-positiven-HSPC behandelt, die mit einem von MLV abgeleiteten LTR-getriebenen gammaretroviralen Vektor korrigiert wurden, der WASP exprimiert.²⁹ Die Gentherapie führte zu einer geringeren Häufigkeit und Schwere von Infektionen, einer Korrektur der Thrombozytopenie und zur Reduktion und z. T. zum Verschwinden von Hautmanifestationen (Ekzemen). Nachdem in der frühen Phase nach Gentherapie keine klonalen Auffälligkeiten beobachtet wurden, entwickelten sieben Patienten innerhalb von 5 Jahren nach der Behandlung eine akute Leukämie (Braun et al. 2014).³⁰

In einer Folgestudie wurde der gammaretrovirale LTR-Vektor durch einen lentiviralen SIN-Vektor, der einen proximalen WAS-Promotor zur Expression des therapeutischen WASP-Transgens verwendet, ersetzt. In dieser Studie mit autologen HSPC erwies sich die Gentherapie bei sieben WAS-Patienten mit schwerer Erkrankung als praktikabel und sicher (Charrier et al. 2007; Hacein-Bey Abina et al. 2015). Ein Patient starb an einem septischen Schock aufgrund einer therapieresistenten Herpesvirusinfektion,³¹ aber bei den anderen sechs Patienten konnte ein stabiles Anwachsen funktioneller genmodifizierter Zellen mit WASP-Expression in T-, NK- und B-Zellen beobachtet werden. Wichtig ist, dass keine Anzeichen für vektorbedingte Toxizität beobachtet wurden, was die Sicherheit der lentiviralen SIN-Vektoren für die Gentherapie weiter untermauert (Aiuti et al. 2013; Hacein-Bey Abina et al. 2015).

²⁸Thrombozytopenie ist ein Mangel an Blutplättchen.

²⁹Nummer des Deutschen Registers für Klinische Studien: DRKS00000330, siehe unter: <https://drks.de/search/en/trial/DRKS00000330> [01.05.2023].

³⁰In neueren Pressemitteilungen wird von 8 Kindern mit Leukämie und bedauerlicherweise 3 verstorbenen Patienten berichtet.

³¹Hier handelt es sich also nicht um eine Nebenwirkung der Gentherapie, sondern um eine Folge eines ausgeprägten Immundefekts, für die die Therapie zu spät kam.

3.5.3 Chronische Granulomatose (CGD)

Bei CGD-Patienten sind die Immunzellen der myeloischen (das Knochenmark betreffenden) Linie weniger in der Lage, Sauerstoffradikale zu erzeugen, die für die Zerstörung aufgenommener Krankheitserreger wichtig sind. Diese verminderte Funktionalität der Immunzellen der angeborenen Immunantwort führt zu wiederkehrenden Infektionen. Die häufigste Form von CGD wird X-chromosomal vererbt (X-CGD); sie wird durch *CYBB*-Mutationen³² verursacht, die zu einem Verlust der NADPH-Oxidase-Aktivität der Phagozyten³³ führen. Es gibt auch autosomal rezessive³⁴ CGD-Formen, die durch Mutationen in *CYBA*,³⁵ *NCF1*,³⁶ *NCF2* oder *NCF4* verursacht werden (Übersicht in Roos 2019).

Ähnlich wie bei den WASP-Studien erreichten die X-CGD-Patienten, deren HSPC mit einem gammaretroviralen LTR-gesteuerten Vektor behandelt worden waren, sehr schnell nach der Therapie eine Beseitigung vieler Krankheitssymptome. Allerdings kam es danach innerhalb weniger Monate zu einem Verlust der therapeutischen Genexpression aufgrund von Transgen-Silencing (Abschalten des Promotors/Enhancers im Vektor durch Methylierung).³⁷ Parallel dazu wurde ein klonales Wachstum hämatopoetischer Zellen mit retroviralen Insertionsstellen im *MECOM(MDS1-EVII)*-Lokus festgestellt,³⁸ was zur Transformation der genveränderten Zellen beitrug (Ott et al. 2006; Stein et al. 2010; Siler et al. 2015).³⁹ Auch hier wurde für die Folgestudien ein lentiviraler SIN-Vektor entwickelt, der so konstruiert wurde, dass er hGP91-PHOX über einen phagozytenspezifischen Promotor exprimiert. Dieser wurde von Gruppen in London und Frankfurt gemeinsam entwickelt und in klinischen Studien getestet (Santilli et al. 2011; Kohn et al. 2020).⁴⁰ Bei sechs der neun Patienten konnte eine klinische Wirksamkeit über mehr als zwölf Monate nachgewiesen werden, ohne dass es Anzeichen für ein Silencing des Transgens oder eine klonale Expansion gab.

³² Cytochrom b-245 Beta-Kette, gp91PHOX.

³³ Phagozyten (auch Fresszellen) vernichten Krankheitserreger, wofür die NADPH-Oxidase-Aktivität benötigt wird.

³⁴ Autosomal rezessiv vererbte Krankheiten brechen nur aus, wenn zwei defekte Kopien (je eine von beiden Elternteilen) des betreffenden Gens geerbt wurden, z. B. bei Mukoviszidose. Autosomal dominant vererbte Krankheiten brechen bereits aus, wenn eine defekte Kopie des betreffenden Gens von einem Elternteil geerbt wurde, z. B. bei Morbus Huntington.

³⁵ Cytochrom b-245-Alpha-Kette.

³⁶ Neutrophiler zytosolischer Faktor 1.

³⁷ Bei der Methylierung der DNA werden Methylgruppen (-CH₃) an bestimmte Basenpaare der DNA angehängt. Solche epigenetischen Veränderungen können z. B. bewirken, dass das Gen nicht mehr abgelesen wird.

³⁸ Dabei handelt es sich um einen Proto-Onkogen-Lokus, der schon für seine Rolle bei der Leukämieentstehung bekannt war.

³⁹ Siehe NCT00564759: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00564759> [01.05.2023].

⁴⁰ Siehe NCT01855685: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01855685>; NCT02234934: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02234934> [01.05.2023].

3.5.4 Hämoglobinopathien

Hämoglobinopathien sind Erbkrankheiten, die durch Mutationen und/oder Deletionen in α - oder β -Globin-Genen gekennzeichnet sind und zu einer fehlerhaften oder instabilen Hämoglobinsynthese⁴¹ führen. Die beiden Hauptgruppen der Hämoglobinopathien sind die autosomal rezessiven Thalassämie-Syndrome und die Sichelzellanämie sowie die autosomal dominanten Hämoglobinstörungen. Hämoglobinopathien sind vor allem in Ländern des globalen Südens verbreitet, werden in Deutschland infolge der Zuwanderung aber inzwischen häufiger diagnostiziert (Kohne und Kleihauer 2010). Früher war die allogene HSCT die einzige Heilungsmöglichkeit für Hämoglobinopathien, aber mittlerweile gibt es mehrere Gentherapiestudien für Patienten, für die es keinen geeigneten HSCT-Spender gibt. Mindestens drei von der Firma Bluebird Bio gesponserte Studien, bei denen lentivirale Vektoren zur Transduktion autologer hämatopoetischer Zellen ex vivo eingesetzt werden, wurden bzw. werden weltweit (inkl. Deutschland) durchgeführt. Eine laufende Studie ist beispielsweise eine multizentrische Studie zur Behandlung von transfusionsabhängigen β -Thalassämie-Patienten, die mit Gentherapie behandelt wurden, u. a. an der Medizinischen Hochschule Hannover (Magrin et al. 2022).⁴² Alle vier behandelten Patienten sind 4,6 bis 7,9 Jahre nach der Gentherapie transfusionsfrei geblieben, ohne dass behandlungsbedingte Nebenwirkungen aufgetreten sind.

Eine weitere, an mehreren Standorten durchgeführte Phase-3-Studie untersuchte die Wirksamkeit und Sicherheit der Gentherapie mit LentiGlobin BB305 (Betibeglogene autotemcel, Zynteglo®) bei transfusionsabhängigen β -Thalassämie-Patienten im Alter von ≤ 50 Jahren, die verschiedene Genotypen haben.⁴³ Zu den Standorten in Deutschland gehörten die Medizinische Hochschule Hannover und die Universität Heidelberg.

Eine weitere Phase-3-Studie mit mehreren Standorten (einschließlich der Medizinischen Hochschule Hannover) bewertete die Wirksamkeit und Sicherheit der Gentherapie mit einem lentiviralen β A-T87Q-Globin-Vektor bei transfusionsabhängigen β -Thalassämie-Patienten, die ≤ 50 Jahre alt sind und keinen $\beta 0/\beta 0$ -Genotyp haben.⁴⁴ Die Transfusionsunabhängigkeit wurde bei 20 von 22 auswertbaren Patienten erreicht. Allerdings hatten vier Patienten mindestens ein unerwünschtes Ereignis, das als mit der Gentherapie in Zusammenhang stehend angesehen wurde, darunter ein schwerer Fall von Thrombozytopenie (Locatelli et al. 2022). Zynteglo® hat vor Kurzem die Marktzulassung durch die EMA erhalten,⁴⁵ wurde dann aber durch die Firma freiwillig vom Markt genommen, da

⁴¹ Der „Blutfarbstoff“ Hämoglobin dient als Sauerstoffträger in den roten Blutkörperchen (Erythrozyten).

⁴² Siehe NCT02633943: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02633943> [01.05.2023].

⁴³ Siehe NCT03207009: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03207009> [01.05.2023].

⁴⁴ Siehe NCT02906202: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02906202> [01.05.2023].

⁴⁵ Siehe unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zynteglo> [01.05.2023].

keine Einigung mit den Kostenträgern über die Erstattung erreicht werden konnte.⁴⁶ In den USA kostet die Behandlung mit Zynteglo® 2,8 Mio. US\$, ein Mehrfaches der ebenfalls kurativen allogenen Stammzelltransplantation (siehe auch Alex/König, Kap. 22).

3.5.5 Junktionale Epidermolysis bullosa (JEB)

JEB ist eine Hautadhäsionsstörung zwischen Epidermis und Dermis,⁴⁷ die durch Ablösung der obersten Hautschicht und der Schleimhäute aufgrund von Mutationen in Genen wie *COL17A1*, *ITGB4*, *LAMA3*, *LAMB3* oder *LAMC2* gekennzeichnet ist. Die Durchführbarkeit und Sicherheit einer Gentherapie zur Behandlung eines erwachsenen Patienten mit *LAMB3*-defizientem JEB, die durch eine Mutation des *LAMB3*-Gens verursacht wurde, wurde schon vor mehr als 15 Jahren in Italien nachgewiesen (Mavilio et al. 2006). Primäre Keratinozyten des Patienten wurden mit einem LTR-getriebenen gammaretroviralen Vektor transduziert, der die *LAMB3*-cDNA in voller Länge exprimiert. *LAMB3* war funktional, und die transplantierte Haut blieb während der einjährigen Nachbeobachtungszeit stabil, ohne Blasen, Infektionen, Entzündungen oder Immunreaktionen (Mavilio et al. 2006). Zur zweiten Anwendung dieser Form der Gentherapie kam es in Deutschland mit dem Ziel, das Leben eines siebenjährigen Kindes zu retten, das an einer schweren Form von JEB litt, die Blasen und Hauterosionen auf etwa 80 % seiner gesamten Körperoberfläche verursachte (Hirsch et al. 2017). Der oben beschriebene LTR-gesteuerte gammaretrovirale Vektor (MLV-RV) wurde zur Expression von *LAMB3*-cDNA verwendet, und die durch diesen Gentherapieansatz erzeugte transplantierte und regenerierte Haut war vollständig funktional und resistent gegenüber mechanischer Belastung. Untermauert wurde dies durch das Fehlen von Blasen oder Hauterosionen über 21 Monate. Inzwischen zeigte die langfristige Nachbeobachtung dieses Patienten, dass die transgene Epidermis 5 Jahre und 5 Monate nach der Transplantation der gentherapeutisch veränderten autologen epidermalen Transplantate stabil und funktional waren (Kueckelhaus et al. 2021), und damit die Grunderkrankung weitgehend kurativ behandelt worden war.

3.6 Gentherapie für erworbene Krankheiten

3.6.1 Selektions- und Eliminationsansätze in der Gentherapie

Die allogene HSCT ist zwar die einzige kurative Behandlung für verschiedene bösartige und nicht bösartige Erkrankungen, sie ist jedoch häufig mit potenziell lebensbedrohlichen Nebenwirkungen wie schweren Infektionen und der Graft-versus-

⁴⁶Siehe unter: <https://www.dgho.de/aktuelles/news/newsarchiv/2021/bluebird-bio-nimmt-das-gentherapeutikum-zynteglo-r-aus-wirtschaftlichen-gruenden-vom-deutschen-markt> [13.04.2023].

⁴⁷Epidermis ist die äußere Hautschicht, Dermis die Hautschicht darunter.

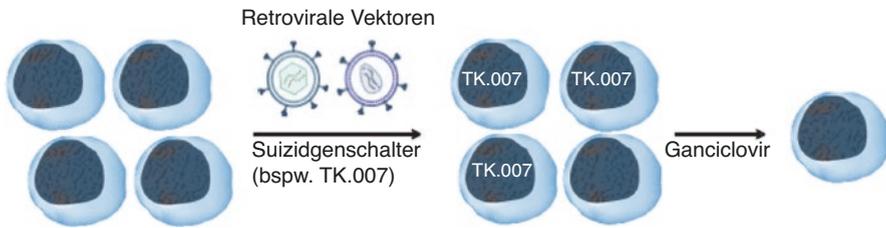


Abb. 3.3 Strategie zur Eliminierung genveränderter Zellen im Falle unerwünschter Ereignisse. Zellen können genetisch so modifiziert werden, dass sie „Suizidgene“ wie die Thymidinkinase des Herpes-Simplex-Virus (scHSV-tk) oder davon abgeleitete, effizientere Varianten (z. B. TK.007) exprimieren. Dieser Ansatz ermöglicht eine spätere Eliminierung modifizierter Zellen, falls diese entarten, unerwünschte Immunreaktionen hervorrufen oder einfach entfernt werden sollen, nachdem die klinische Krankheit abgeklungen ist. Die retroviralen Partikel wurden mit [Bioender.com](#) erstellt.

Host-Disease (GvHD)⁴⁸ verbunden. Um das GvHD-Risiko zu minimieren und zugleich die erwünschten spenderimmunzellvermittelten Effekte⁴⁹ beizubehalten, wurden die Spender-T-Zellen mit einem „Suizidgen“ modifiziert. Solche Suizidgene ermöglichen eine induzierbare Entfernung der genmodifizierten allogenen T-Zellen, falls beim Patienten schwere GvHD-Reaktionen auftreten sollten (Bonini et al. 1997; Tiberghien et al. 2001).

Eine Phase-1/2-Studie zur Evaluierung der Transplantation von CD34-angereicherten⁵⁰ peripheren Blutstammzellen, die mit dem HSV-TK-Suizidgen⁵¹ modifiziert wurden, wurde bei einem MDS (Myelodysplastische Syndrom)- und zwei CML (Chronische Myeloische Leukämie)-Patienten in Hamburg durchgeführt (Fehse et al. 2004a) (siehe Abb. 3.3). Es wurden keine akuten Toxizitäten beobachtet, und bei allen drei Patienten kam es nach der Transplantation zu einer raschen Rekonstitution. Bei einem Patienten entwickelte sich eine akute GvHD Grad II der Haut, die nach Induktion des Suizidgens durch Ganciclovir-Gabe vollständig abklang und mit einem raschen Verlust der genmodifizierten T-Zellen einherging. Bei einem weiteren Patienten wurden die modifizierten T-Zellen abgestoßen. Bei beiden Patienten, die die genetisch modifizierten T-Zellen verloren hatten, kam es anschließend zu einem sekundären Transplantatversagen, was auf die Bedeutung der Spender-T-Zellen für das langfristige Anwachsen des Transplantats hinweist.

⁴⁸Die Spender-gegen-Wirt-Krankheit ist eine potenziell lebensbedrohliche Krankheit, die durch bei der HSCT mitübertragenen Immunzellen des Spenders ausgelöst wird, die gesundes Gewebe des Empfängers angreifen.

⁴⁹Spender-gegen-Leukämie („graft-versus-leukemia“, GVL) und Spender-gegen-Infektion („graft-versus-infection“, GVI).

⁵⁰Bei CD34 handelt es sich um ein Oberflächenantigen (Marker), das typischerweise auf Blutstammzellen exprimiert und daher zu ihrer Anreicherung benutzt wird.

⁵¹Herpes-Simplex-Virus-Thymidinkinase. Der Selbstmord der Zellen wird durch das Virostatikum Ganciclovir ausgelöst.

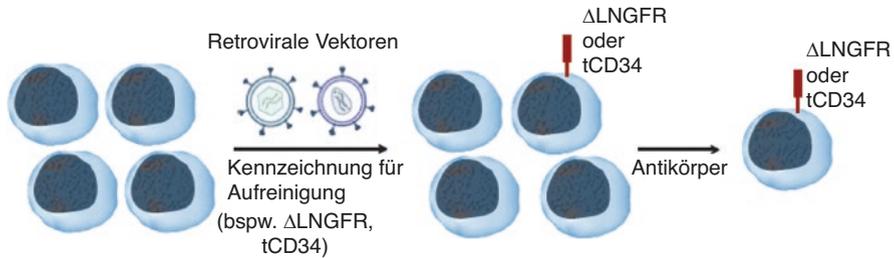


Abb. 3.4 Genetische Modifikation von therapeutischen Zellen für deren Aufreinigung
Therapeutische Zellen können mit retroviralen Vektoren modifiziert werden, die die Expression spezifischer Formen von Rezeptorproteinen ermöglichen, wie z. B. verkürzte Formen von CD34 (tCD34) oder des Nervenwachstumsrezeptors mit niedriger Affinität (ΔLNGFR). Gegen diese Oberflächenmoleküle gerichtete Antikörper können dann für eine In-vitro-Anreicherung genetisch modifizierter Zellen verwendet werden. Die retroviralen Partikel wurden mit [Biorender.com](https://www.biorender.com) erstellt

Für besagten Suizidgenansatz, aber auch andere Gentherapien, ist es wichtig, dass dem Patienten möglichst ausschließlich genetisch modifizierte Zellen infundiert werden. Um dies zu erreichen, werden mit dem Vektor neben dem therapeutischen auch spezielle „Markergene“ eingebracht, die eine Anreicherung der modifizierten Zellen ermöglichen. Zum Beispiel wurde in Hamburg für die Anreicherung gentechnisch veränderter primärer menschlicher T-Zellen eine verkürzte Form von CD34 (tCD34) entwickelt, wodurch eine hohe Reinheit (> 95 %) erreicht werden kann (Fehse et al. 2000) (siehe Abb. 3.4). Diese Expressionskassette wurde dann mit einer Variante des Ganciclovir-induzierbaren Selbstmordgens Herpes-Simplex-Virus-Thymidinekinase (scHSV-tk) gekoppelt, um ein tCD34-scHSV-tk-Fusionsprotein zu erzeugen, das von dem gammaretroviralen Hybridvektor MP71 exprimiert wird, der die MPSV-LTR und die MESV-Leader-71-Sequenz enthält (Fehse et al. 2002). Der in Deutschland entwickelte Vektor erwies sich bei einer in London durchgeführten klinischen Studie bei drei Kindern, die T-Zell-depletierte CD34-positive-HSC von nicht passenden Spendern erhielten, als praktikabel und sicher (Zhan et al. 2013).⁵²

Eine multizentrische Phase-1–2-Studie mit einer klinischen Prüfstelle an der Medizinischen Hochschule Hannover untersuchte die Infusion von mit HSV-TK transduzierten Spenderlymphozyten bei 50 Hochrisiko-Leukämiepatienten nach haploidenten⁵³ Stammzelltransplantation (Ciceri et al. 2009).⁵⁴ Die Spenderlymphozyten wurden mit dem gammaretroviralen Vektor SFCMM-3 modifiziert, der das HSV-tk-Gen über den LTR exprimiert und ein anderes Markergen enthält,

⁵² Siehe NCT01204502: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01204502> [01.05.2023].

⁵³ „Halbpassend“: Findet sich kein vollständig passender Spender, kann können z. B. auch Stammzellen von einem Elternteil auf ihr Kind (oder einem leiblichen Kind auf ein Elternteil) übertragen werden. Da die Transplantationsantigene von beiden Elternteilen geerbt werden, gibt es in diesen Fällen eine Übereinstimmung von mind. 50 %.

⁵⁴ Siehe NCT00423124: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00423124> [01.05.2023].

den „low affinity nerve growth factor“-Rezeptor (LNGFR). Dessen intrazelluläre Domäne wurde entfernt (Δ LNGFR), um die Aktivierung der Signalkaskade zu inhibieren, aber dennoch die Selektion der transduzierten Zellen über die extrazelluläre Domäne zu ermöglichen (siehe Abb. 3.4). Das Ausbleiben akuter oder chronischer unerwünschter Ereignisse beweist die Sicherheit dieses Gentherapieansatzes. Die Infusion von TK-modifizierten Lymphozyten schien die Immunrekonstitution zu beschleunigen, und die Induktion des Selbstmordgens kontrollierte erfolgreich die GvHD bei zehn Patienten mit akuter GvHD und einem Patienten mit chronischer GvHD (Ciceri et al. 2009; Weissinger et al. 2015). Obwohl das SFCMM3-basierte ATMP im Jahr 2016 eine bedingte Marktzulassung (CMA) in Europa (als Zalmoxis®) erhielt, wurde die parallele Phase-3-Studie abgebrochen und die CMA auf Antrag der Firma (MolMed) aus kommerziellen Gründen Ende 2019 zurückgezogen.

Um eine schnellere Eliminierung der veränderten Zellen bei niedrigeren Ganciclovir-Konzentrationen zu ermöglichen und somit die unspezifische Toxizität zu verringern, wurden von verschiedenen Gruppen optimierte Versionen des HSV-TK-Suizidgens entwickelt, wie z. B. TK.007, das in einer Kooperation zwischen dem UK Hamburg-Eppendorf, der Goethe-Uni in Frankfurt und dem Karolinska-Institut in Stockholm entstanden ist (Preuss et al. 2010, 2011).

3.6.2 Gentherapie bei Krebserkrankungen

Um Krebserkrankungen mithilfe retroviraler Vektoren gezielt zu bekämpfen, macht man sich verschiedene der oben genannten Mechanismen zunutze. So wurde gezeigt, dass lentivirale Vektoren, die mit dem Glykoprotein des lymphozytären Choriomeningitis-Virus (LCMV) pseudotypisiert sind, bestimmte Arten von Hirntumoren (Gliome) und infiltrierende Tumorzellen effizient und selektiv transduzieren (Miletic et al. 2004). Diese Eigenschaft kann mit der Besonderheit des HSVtk-Suizidmechanismus gekoppelt werden, der sich nur gegen Zellen richtet, die sich teilen. Tatsächlich führte die Behandlung mit lentiviralen HSV-tk-Vektoren, die mit LCMV-G pseudotypisiert waren, zu einer vollständigen Remission von soliden Tumoren in einem Glioblastom-Xenograft-Modell (Huszthy et al. 2009).

Ein weiteres aktuelles und vielsprechendes Gebiet der Krebsgentherapie sind chimäre Antigenrezeptor(CAR)-Immunzellen, die Dennis Harrer und Hinrich Abken in diesem Themenband behandeln (siehe Kap. 10), weshalb diese hier nicht detailliert aufgeführt werden.

3.6.3 Gentherapie gegen die HIV-1-Infektion

Die Entdeckung der Mechanismen des Eindringens von Viren in Zielzellen kann auch dazu genutzt werden, Zellen vor Virusinfektionen, wie z. B. HIV-1, zu schützen. Das Hüllglykoprotein gp120 von HIV-1 bindet an die Rezeptoren der Zielzellen und bestimmt so das Wirtszellspektrum des Virus, wobei die Untereinheit

gp41, das ein C-Peptidregion enthält, die Verschmelzung der Membranen von Virus und Zielzelle vermittelt (Wild et al. 1994). Dorothee von Laer konnte in Hamburg zeigen, dass die LTR-gesteuerte Expression einer membranverankerten Version vom C-Peptid T20 Zelllinien vor einer HIV-Infektion schützte, indem der Eintritt von HIV-1 in die Zelle wirksam durch Hemmung der Fusion der viralen Lipidmembran mit der Plasmamembran der Zielzelle blockiert werden konnte (Wild et al. 1994; Hildinger et al. 2001). Diese Strategie wurde noch weiter optimiert, um immunogene Nebenwirkungen zu minimieren, und die membranverankerten C-Peptide T20 (C36) und C46 hemmten die HIV-1-Infektion menschlicher primärer Blutlymphozyten, wobei C46 den Eintritt von C36-resistenten HIV-1-Varianten wirksam blockierte (Egelhofer et al. 2004). Die weltweit ersten klinischen Studien, in denen der C46-Vektor zur Modifikation autologer T-Zellen und Blutstammzellen benutzt wurde, wurden in Hamburg durchgeführt.⁵⁵

Von amerikanischen Kollegen wurde der von gp41 abgeleitete HIV-1-Eintrittsinhibitor in einen lentiviralen SIN-Vektor kloniert, der einen CMV-Promotor verwendet, um membrangebundenes C46 zu exprimieren. Dieses Konstrukt schützte primäre menschliche T-Zellen vor einer Infektion mit dem CXCR4-tropischen HIV-Stamm BK132 (Perez et al. 2005).

Eine präklinische Studie an einem Primatenmodell für HIV-1 und eine chimäre Infektion mit dem Affen-Immundefizienz-Virus (SIV)/HIV-1 zeigte, dass die Verwendung eines SFFV-promotorgesteuerten lentiviralen Vektors zur Modifizierung von HSC für die Transplantation in AIDS-Patienten, die sich einer Chemotherapie unterziehen müssen, durchführbar ist (Trobridge et al. 2009). Zusätzlich wurde eine mutierte Methylguanin-Methyltransferase (MGMT^{P140K}) mit übertragen, um modifizierte HSC und ihre Nachkommen resistent gegen Chemotherapie zu machen. Damit konnte eine In-vivo-Anreicherung der genmodifizierten HIV-resistenten Zellen erreicht werden (Trobridge et al. 2009) (siehe Abb. 3.5).

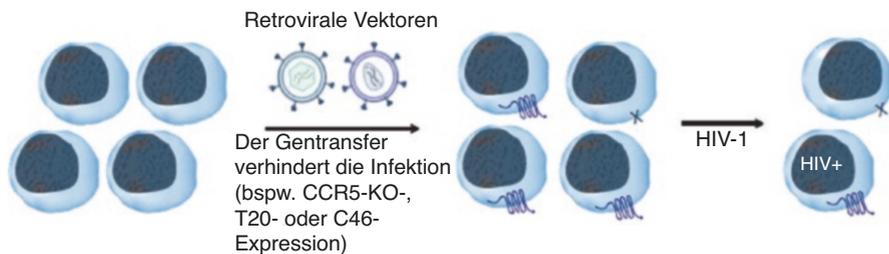


Abb. 3.5 Die genetische Modifikation von Zellen schützt die Zellen vor einer Infektion. Die Expression oder der Knockout (KO) von Zelloberflächenmolekülen sind Strategien, die zum Schutz von Zellen vor einer HIV-Infektion eingesetzt werden können. So kann z. B. der Knockout der Zellrezeptoren CCR5 und CXCR4 Zellen vor einer HIV-1-Infektion schützen. Darüber hinaus kann die Modifizierung von Zellen zur Expression kleiner membrangebundener C-Peptide wie T20 und C46 ebenfalls eine HIV-1-Infektion modifizierter Zellen verhindern. Die retroviralen Partikel wurden mit [Biorender.com](https://biorender.com) erstellt

⁵⁵ Siehe NCT00858793: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00858793> [01.05.2023].

Die Beobachtung, dass drei HIV-Patienten (in Berlin, Düsseldorf und London) nach einer Transplantation mit hämatopoetischen Stammzellen, denen der HIV-Korezeptor CCR5 fehlt,⁵⁶ geheilt wurden, unterstützt nachdrücklich die Entwicklung weiterer neuartiger zell- und gentherapeutischer Strategien zur Behandlung von HIV-Patienten (Hutter et al. 2009; Jensen et al. 2023) (siehe Abb. 3.5). Solche Ansätze könnten therapeutisch wichtig sein, um die derzeitigen Herausforderungen wie die Nebenwirkungen der derzeitigen Standard-HIV-Behandlungen (antiretrovirale Therapie, ART), zunehmende Resistenzen gegen ART sowie die Kosten für das Gesundheitssystem zu überwinden, da die Zell- und Gentherapie eine einmalige Behandlung mit potenzieller Heilung bieten könnte. Deutsche Forschergruppen haben auch gezeigt, dass es möglich ist, spezifische Sequenzen in den LTRs des integrierten HIV-1-Provirus anzusteuern und HIV-1 aus infizierten Zellen zu entfernen (Hauber et al. 2013; Karpinski et al. 2016).

3.7 Ausblick: Retrovirale Gentherapie

Eine systematische Nutzen-Schaden-Bewertung wird auch weiterhin eine wichtige Komponente für die Umsetzung jeglicher retroviraler Gentherapieansätze sein. Retrovirale Vektoren wurden zur Behandlung von mehr als 400 Patienten mit monogenen Erbkrankheiten und von mehreren tausend Krebspatienten, z. B. mit CAR-T-Zellen, eingesetzt und weisen in vielen Fällen (wie z. B. in HSPC bei SIN-Vektoren) eine sehr gute Sicherheit und Wirksamkeit auf. Die klinischen Erfolge der Gen- und Zelltherapien führten zu einer gemeinsamen Erklärung des FDA-Kommissars Scott Gottlieb und des Direktors des Center for Biologics Evaluation and Research Peter Marks (CBER), die vorhersagten, dass ab 2025 jährlich 10 bis 20 neue Zell- und Gentherapieprodukte von der FDA zugelassen werden.⁵⁷

Die Entwicklung präziserer Instrumente zur Genomveränderung und Fortschritte in der biomedizinischen Technologie, einschließlich DNA/RNA-Sequenzierung und Proteomanalysen, schaffen neue Möglichkeiten zur Erkennung und Behandlung erworbener und vererbter Krankheiten. Mit der weiteren Unterstützung nationaler und internationaler Kooperationsnetzwerke zum Aufbau und zur Aufrechterhaltung kritischer Infrastrukturen werden in Zukunft neue Therapieoptionen entstehen, die sichere und wirksame Gentherapien zur Heilung unheilbarer Krankheiten einschließen (siehe Abb. 3.6).

⁵⁶Ca. 10 % der europäischstämmigen Menschen tragen ein defektes CCR5-Allel (CCR5 Δ 32). Bei ca. 1 % liegt die Mutation auf beiden Allelen vor. Betroffene haben überraschenderweise praktisch keine gesundheitlichen Nachteile, sind aber fast vollständig vor einer HIV-Infektion geschützt.

⁵⁷Siehe unter: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/statement-fda-commissioner-scott-gottlieb-md-and-peter-marks-md-phd-director-center-biologics> [01.05.2023].

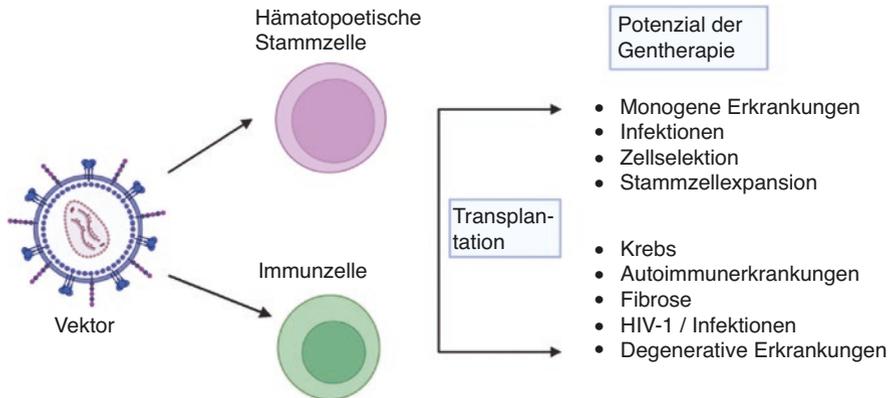


Abb. 3.6 Überblick über aktuelle und potenzielle Anwendungen von Gen- und Zelltherapien
Mit retroviralen Vektoren (hier ein lentiviraler Vektor) können somatische Zellen wie hämatopoetische Stammzellen und Immunzellen verändert werden, die dann für eine Vielzahl klinischer Anwendungen in Patienten transplantiert werden können, darunter die Behandlung von monogenen Erbkrankheiten, Infektionen, Krebs, Fibrose, Autoimmun- und degenerativen Krankheiten

Literatur

- Agarwal S et al (2020) In vivo generation of CAR T cells selectively in human cd4(+) lymphocytes. *Mol Ther* 28(8):1783–1794
- Aiuti A et al (2009) Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med* 360(5):447–458
- Aiuti A et al (2013) Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy in patients with Wiskott-Aldrich syndrome. *Science* 341(6148):1233151
- Arens A et al (2012) Bioinformatic clonality analysis of next-generation sequencing-derived viral vector integration sites. *Hum Gene Ther Methods* 23(2):111–118
- Baron Y et al (2022) Improved alpharetrovirus-based Gag.MS2 particles for efficient and transient delivery of CRISPR-Cas9 into target cells. *Mol Ther Nucleic Acids* 27:810–823
- Baum C et al (1995) Novel retroviral vectors for efficient expression of the multidrug resistance (mdr-1) gene in early hematopoietic cells. *J Virol* 69(12):7541–7547
- Baum C et al (1996) Improved retroviral vectors for hematopoietic stem cell protection and in vivo selection. *J Hematother* 5(4):323–329
- Baum C et al (1998) cis-Active elements of Friend spleen focus-forming virus: from disease induction to disease prevention. *Acta Haematol* 99(3):156–164
- Baum C et al (2003) Side effects of retroviral gene transfer into hematopoietic stem cells. *Blood* 101(6):2099–2114
- Baum C et al (2006) Mutagenesis and oncogenesis by chromosomal insertion of gene transfer vectors. *Hum Gene Ther* 17(3):253–263
- Bender RR et al (2016) Receptor-targeted nipah virus glycoproteins improve cell-type selective gene delivery and reveal a preference for membrane-proximal cell attachment. *PLoS Pathog* 12(6):e1005641
- Beyer WR et al (2002) Oncoretrovirus and lentivirus vectors pseudotyped with lymphocytic choriomeningitis virus glycoprotein: generation, concentration, and broad host range. *J Virol* 76(3):1488–1495

- Biffi A et al (2013) Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy. *Science* 341(6148):1233-1238
- Bonini C et al (1997) HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. *Science* 276(5319):1719–1724
- Boztug K et al (2010) Stem-cell gene therapy for the Wiskott-Aldrich syndrome. *N Engl J Med* 363(20):1918–1927
- Braun CJ et al (2014) Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome—long-term efficacy and genotoxicity. *Sci Transl Med* 6(227):227ra233
- Brendel C et al (2018) Non-clinical efficacy and safety studies on g1xcgd, a lentiviral vector for ex vivo gene therapy of x-linked chronic granulomatous disease. *Hum Gene Ther Clin Dev* 29(2):69–79
- Buchholz CJ et al (2015) Surface-engineered viral vectors for selective and cell type-specific gene delivery. *Trends Biotechnol* 33(12):777–790
- Bukrinsky MI et al (1993) A nuclear localization signal within HIV-1 matrix protein that governs infection of non-dividing cells. *Nature* 365(6447):666–669
- Bunnell BA et al (1997) Efficient in vivo marking of primary CD4+ T lymphocytes in nonhuman primates using a gibbon ape leukemia virus-derived retroviral vector. *Blood* 89(6):1987–1995
- Burns JC et al (1993) Vesicular stomatitis virus G glycoprotein pseudotyped retroviral vectors: concentration to very high titer and efficient gene transfer into mammalian and nonmammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(17):8033–8037
- Burtner CR et al (2014) Intravenous injection of a foamy virus vector to correct canine SCID-X1. *Blood* 123(23):3578–3584
- Cartier N et al (2009) Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science* 326(5954):818–823
- Cavazzana M et al (2019) Gene therapy targeting haematopoietic stem cells for inherited diseases: progress and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 18(6):447–462
- Cavazzana-Calvo M et al (2000) Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 288(5466):669–672
- Cavazzana-Calvo M et al (2010) Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia. *Nature* 467(7313):318–322
- Charrier S et al (2007) Lentiviral vectors targeting WASp expression to hematopoietic cells, efficiently transduce and correct cells from WAS patients. *Gene Ther* 14(5):415–428
- Charrier S et al (2019) Biosafety studies of a clinically applicable lentiviral vector for the gene therapy of artemis-scid. *Mol Ther Methods Clin Dev* 15:232–245
- Cherepanov P et al (2003) HIV-1 integrase forms stable tetramers and associates with LEDGF/p75 protein in human cells. *J Biol Chem* 278(1):372–381
- Ciceri F et al (2009) Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study. *Lancet Oncol* 10(5):489–500
- De Ravin SS et al (2016) Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *Sci Transl Med* 8(335):335ra357
- De Rijck J et al (2013) The BET family of proteins targets moloney murine leukemia virus integration near transcription start sites. *Cell Rep* 5(4):886–894
- Deichmann A et al (2007) Vector integration is nonrandom and clustered and influences the fate of lymphopoiesis in SCID-X1 gene therapy. *J Clin Invest* 117(8):2225–2232
- Deichmann A et al (2011) Insertion sites in engrafted cells cluster within a limited repertoire of genomic areas after gammaretroviral vector gene therapy. *Mol Ther* 19(11):2031–2039
- Dull T et al (1998) A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system. *J Virol* 72(11):8463–8471
- Egelhofer M et al (2004) Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 entry in cells expressing gp41-derived peptides. *J Virol* 78(2):568–575
- El Ashkar S et al (2014) BET-independent MLV-based vectors target away from promoters and regulatory elements. *Mol Ther Nucleic Acids* 3:e179

- El Ashkar S et al (2017) Engineering next-generation bet-independent mlv vectors for safer gene therapy. *Mol Ther Nucleic Acids* 7:231–245
- Engels B et al (2003) Retroviral vectors for high-level transgene expression in T lymphocytes. *Hum Gene Ther* 14(12):1155–1168
- Everson E et al (2016) A comparison of foamy and lentiviral vector genotoxicity in SCID-repopulating cells shows foamy vectors are less prone to clonal dominance. *Mol Ther Methods Clin Dev* 3:16048
- Fehse B et al (1998) Highly-efficient gene transfer with retroviral vectors into human T lymphocytes on fibronectin. *Br J Haematol* 102(2):566–574
- Fehse B et al (2000) CD34 splice variant: an attractive marker for selection of gene-modified cells. *Mol Ther* 1(5 Pt 1):448–456
- Fehse B et al (2002) A novel ‘sort-suicide’ fusion gene vector for T cell manipulation. *Gene Ther* 9(23):1633–1638
- Fehse B et al (2004a) Evidence for increased risk of secondary graft failure after in vivo depletion of suicide gene-modified T lymphocytes transplanted in conjunction with CD34+-enriched blood stem cells. *Blood* 104(10):3408–3409
- Fehse B et al (2004b) Pois(s)on – It’s a Question of Dose *Gene Ther* 11:879–881
- Fehse B, Walter J, AG Gentechnologiebericht (Hrsg) (2022) Im Fokus: RNA. Eine aktuelle Bestandsaufnahme der Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht. BIH, Berlin. Unter: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/37118>. Zugegriffen am 08.03.2023
- Ferrua F, Aiuti A (2017) Twenty-five years of gene therapy for ADA-SCID: from bubble babies to an approved drug. *Hum Gene Ther* 28(11):972–981
- Funke S et al (2008) Targeted cell entry of lentiviral vectors. *Mol Ther* 16(8):1427–1436
- Galla M et al (2004) Retroviral pseudotransduction for targeted cell manipulation. *Mol Cell* 16(2):309–315
- Galla M et al (2011) Avoiding cytotoxicity of transposases by dose-controlled mRNA delivery. *Nucleic Acids Res* 39(16):7147–7160
- Garcia-Perez L et al (2020) Successful preclinical development of gene therapy for recombinase-activating gene-1-deficient SCID. *Mol Ther Methods Clin Dev* 17:666–682
- Gaspar HB (2006) Successful reconstitution of immunity in ADA-SCID by stem cell gene therapy following cessation of PEG-ADA and use of mild preconditioning. *Mol Ther* 14(4):505–513
- Gaspar HB et al (2011) Hematopoietic stem cell gene therapy for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency leads to long-term immunological recovery and metabolic correction. *Sci Transl Med* 3(97):97ra80
- Grez M et al (1990) Embryonic stem cell virus, a recombinant murine retrovirus with expression in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(23):9202–9206
- Gupta SS et al (2013) Bromo- and extraterminal domain chromatin regulators serve as cofactors for murine leukemia virus integration. *J Virol* 87(23):12721–12736
- Gurumoorthy N et al (2022) Non-integrating lentiviral vectors in clinical applications: a glance through. *Biomedicines* 10(1):107
- Hacein-Bey Abina S et al (2015) Outcomes following gene therapy in patients with severe Wiskott-Aldrich syndrome. *Jama* 313(15):1550–1563
- Hacein-Bey-Abina S et al (2002) Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N Engl J Med* 346(16):1185–1193
- Hacein-Bey-Abina S et al (2003) LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 302(5644):415–419
- Hacein-Bey-Abina S et al (2010) Efficacy of gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 363(4):355–364
- Hacein-Bey-Abina S et al (2014) A modified gamma-retrovirus vector for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 371(15):1407–1417
- Hanauer JDS et al (2018) CD30-targeted oncolytic viruses as novel therapeutic approach against classical Hodgkin lymphoma. *Oncotarget* 9(16):12971–12981
- Hartmann J et al (2018) A library-based screening strategy for the identification of darpins as ligands for receptor-targeted AAV and lentiviral vectors. *Mol Ther Methods Clin Dev* 10:128–143

- Hauber I et al (2013) Highly significant antiviral activity of HIV-1 LTR-specific tre-recombinase in humanized mice. *PLoS Pathog* 9(9):e1003587
- Hawley RG et al (1992) Transplantable myeloproliferative disease induced in mice by an interleukin 6 retrovirus. *J Exp Med* 176(4):1149–1163
- Hilberg F et al (1987) Functional analysis of a retroviral host-range mutant: altered long terminal repeat sequences allow expression in embryonal carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(15):5232–5236
- Hildinger M et al (1998) FMEV vectors: both retroviral long terminal repeat and leader are important for high expression in transduced hematopoietic cells. *Gene Ther* 5(11):1575–1579
- Hildinger M et al (2001) Membrane-anchored peptide inhibits human immunodeficiency virus entry. *J Virol* 75(6):3038–3042
- Hirsch T et al (2017) Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells. *Nature* 551(7680):327–332
- Huang J et al (2016) Preclinical validation: LV/IL-12 transduction of patient leukemia cells for immunotherapy of AML. *Mol Ther Methods Clin Dev* 3:16074
- Huang J et al (2017) Lentivector iterations and pre-clinical scale-up/toxicity testing: targeting mobilized CD34(+) cells for correction of fabry disease. *Mol Ther Methods Clin Dev* 5:241–258
- Huszthy PC et al (2009) Remission of invasive, cancer stem-like glioblastoma xenografts using lentiviral vector-mediated suicide gene therapy. *PLoS One* 4(7):e6314
- Hutter G et al (2009) Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 360(7):692–698
- Jaenisch R et al (1983) Germline integration of moloney murine leukemia virus at the Mov13 locus leads to recessive lethal mutation and early embryonic death. *Cell* 32(1):209–216
- Jensen BO et al (2023) In-depth virological and immunological characterization of HIV-1 cure after CCR5Delta32/Delta32 allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nat Med* 29(3):583–587
- Karpinski J et al (2016) Directed evolution of a recombinase that excises the provirus of most HIV-1 primary isolates with high specificity. *Nat Biotechnol* 34(4):401–409
- Kleinlutzum D et al (2017) Enhancing the oncolytic activity of CD133-targeted measles virus: receptor extension or chimerism with vesicular stomatitis virus are most effective. *Front Oncol* 7:127
- Kneissl S et al (2013) CD19 and CD20 targeted vectors induce minimal activation of resting B lymphocytes. *PLoS One* 8(11):e79047
- Kohn DB et al (2020) Lentiviral gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease. *Nat Med* 26(2):200–206
- Kohne E, Kleihauer E (2010) Hemoglobinopathies: a longitudinal study over four decades. *Dtsch Arztebl Int* 107(5):65–71
- Kueckelhaus M et al (2021) Transgenic epidermal cultures for junctional epidermolysis bullosa – 5-year outcomes. *N Engl J Med* 385(24):2264–2270
- Kustikova O et al (2005) Clonal dominance of hematopoietic stem cells triggered by retroviral gene marking. *Science* 308(5725):1171–1174
- Kustikova OS et al (2008) Retroviral integration site analysis in hematopoietic stem cells. *Methods Mol Biol* 430:255–267
- Kustikova OS et al (2009) Retroviral insertion site analysis in dominant haematopoietic clones. *Methods Mol Biol* 506:373–390
- Li Z et al (2002) Murine leukemia induced by retroviral gene marking. *Science* 296(5567):497
- Lindemann D, Rethwilm A (2011) Foamy virus biology and its application for vector development. *Viruses* 3(5):561–585
- Locatelli F et al (2022) Betibeglogene autotemcel gene therapy for non-beta(0)/beta(0) genotype beta-thalassemia. *N Engl J Med* 386(5):415–427
- Maeder ML, Gersbach CA (2016) Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Mol Ther* 24(3):430–446

- Magrin E et al (2022) Long-term outcomes of lentiviral gene therapy for the beta-hemoglobinopathies: the HGB-205 trial. *Nat Med* 28(1):81–88
- Mamcarz E et al (2019) Lentiviral gene therapy combined with low-dose busulfan in infants with SCID-X1. *N Engl J Med* 380(16):1525–1534
- Mavilio F et al (2006) Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nat Med* 12(12):1397–1402
- Miletic H et al (2004) Selective transduction of malignant glioma by lentiviral vectors pseudotyped with lymphocytic choriomeningitis virus glycoproteins. *Hum Gene Ther* 15(11):1091–1100
- Modlich U et al (2006) Cell-culture assays reveal the importance of retroviral vector design for insertional genotoxicity. *Blood* 108(8):2545–2553
- Moiani A et al (2014) Genome-wide analysis of alpharetroviral integration in human hematopoietic stem/progenitor cells. *Genes (Basel)* 5(2):415–429
- Moscattelli I et al (2018) Targeting NSG mice engrafting cells with a clinically applicable lentiviral vector corrects osteoclasts in infantile malignant osteopetrosis. *Hum Gene Ther* 29(8):938–949
- Naldini L et al (1996) In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 272(5259):263–267
- Negre O et al (2015) Preclinical evaluation of efficacy and safety of an improved lentiviral vector for the treatment of beta-thalassemia and sickle cell disease. *Curr Gene Ther* 15(1):64–81
- Newrzela S et al (2008) Resistance of mature T cells to oncogene transformation. *Blood* 112(6):2278–2286
- Newrzela S et al (2012) T-cell receptor diversity prevents T-cell lymphoma development. *Leukemia* 26(12):2499–2507
- Ott MG et al (2006) Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EV11, PRDM16 or SETBP1. *Nat Med* 12(4):401–409
- Perez EE et al (2005) Suppression of HIV-1 infection in primary CD4 T cells transduced with a self-inactivating lentiviral vector encoding a membrane expressed gp41-derived fusion inhibitor. *Clin Immunol* 115(1):26–32
- Philpott NJ, Thrasher AJ (2007) Use of nonintegrating lentiviral vectors for gene therapy. *Hum Gene Ther* 18(6):483–489
- Poletti V et al (2018) Preclinical development of a lentiviral vector for gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency. *Mol Ther Methods Clin Dev* 9:257–269
- Preuss E et al (2010) TK.007: a novel, codon-optimized HSVtk(A168H) mutant for suicide gene therapy. *Hum Gene Ther* 21(8):929–941
- Preuss E et al (2011) Cancer suicide gene therapy with TK.007: superior killing efficiency and bystander effect. *J Mol Med (Berl)* 89(11):1113–1124
- Roos D (2019) Chronic granulomatous disease. *Methods Mol Biol* 1982:531–542
- Santilli G et al (2011) Biochemical correction of X-CGD by a novel chimeric promoter regulating high levels of transgene expression in myeloid cells. *Mol Ther* 19(1):122–132
- Schmidt M et al (2001) Detection and direct genomic sequencing of multiple rare unknown flanking DNA in highly complex samples. *Hum Gene Ther* 12(7):743–749
- Schwarzer A et al (2021) Predicting genotoxicity of viral vectors for stem cell gene therapy using gene expression-based machine learning. *Mol Ther* 29(12):3383–3397
- Schwarzwaelder K et al (2007) Gammaretrovirus-mediated correction of SCID-X1 is associated with skewed vector integration site distribution in vivo. *J Clin Invest* 117(8):2241–2249
- Sessa M et al (2016) Lentiviral haemopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet* 388(10043):476–487
- Sharma A et al (2013) BET proteins promote efficient murine leukemia virus integration at transcription start sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(29):12036–12041
- Siler U et al (2015) Successful combination of sequential gene therapy and rescue allo-HSCT in two children with X-CGD – importance of timing. *Curr Gene Ther* 15(4):416–427
- Stein S et al (2010) Genomic instability and myelodysplasia with monosomy 7 consequent to EVI1 activation after gene therapy for chronic granulomatous disease. *Nat Med* 16(2):198–204

- Stein S et al (2013) From bench to bedside: preclinical evaluation of a self-inactivating gamma-retroviral vector for the gene therapy of X-linked chronic granulomatous disease. *Hum Gene Ther Clin Dev* 24(2):86–98
- Suerth JD et al (2010) Self-inactivating alpharetroviral vectors with a split-packaging design. *J Virol* 84(13):6626–6635
- Suerth JD et al (2012) Alpharetroviral self-inactivating vectors: long-term transgene expression in murine hematopoietic cells and low genotoxicity. *Mol Ther* 20(5):1022–1032
- Tiberghien P et al (2001) Administration of herpes simplex-thymidine kinase-expressing donor T cells with a T-cell-depleted allogeneic marrow graft. *Blood* 97(1):63–72
- Trobridge GD et al (2009) Protection of stem cell-derived lymphocytes in a primate AIDS gene therapy model after in vivo selection. *PLoS One* 4(11):e7693
- Tucci F et al (2022) A systematic review and meta-analysis of gene therapy with hematopoietic stem and progenitor cells for monogenic disorders. *Nat Commun* 13(1):1315
- Voelkel C et al (2010) Protein transduction from retroviral Gag precursors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(17):7805–7810
- Weissingner EM et al (2015) Long term follow up of patients after allogeneic stem cell transplantation and transfusion of HSV-TK transduced T-cells. *Front Pharmacol* 6:76
- Wild CT et al (1994) Peptides corresponding to a predictive alpha-helical domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 are potent inhibitors of virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(21):9770–9774
- Wolstein O et al (2014) Preclinical safety and efficacy of an anti-HIV-1 lentiviral vector containing a short hairpin RNA to CCR5 and the C46 fusion inhibitor. *Mol Ther Methods Clin Dev* 1:11
- Wunsche P et al (2018) Mapping active gene-regulatory regions in human repopulating long-term HSCs. *Cell Stem Cell* 23(1):132–146 e139
- Yu SF et al (1986) Self-inactivating retroviral vectors designed for transfer of whole genes into mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(10):3194–3198
- Zhan H et al (2013) Production and first-in-man use of T cells engineered to express a HSVTK-CD34 sort-suicide gene. *PLoS One* 8(10):e77106
- Zufferey R et al (1997) Multiply attenuated lentiviral vector achieves efficient gene delivery in vivo. *Nat Biotechnol* 15(9):871–875
- Zufferey R et al (1998) Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. *J Virol* 72(12):9873–9880

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



AAV-Vektoren – die imposante Karriere eines Parvovirus

4

Nico Martin Jäschke und Hildegard Büning

4.1 Adeno-assoziierte Viren – ein „Leben“ im Verborgenen

AAV-Vektoren gelten als die derzeit besten Genfähren für die In-vivo-Gentherapie. Aber was ist ihr Ursprung, was macht sie so besonders und wie interagieren sie mit ihrer Umgebung oder mit Wirtszellen? Lassen Sie uns zunächst diese Punkte näher beleuchten, bevor wir Beispiele für ihre Anwendungen besprechen.

AAV-Vektoren leiten sich von Adeno-assoziierten Viren (AAV) ab. Diese gehören zur Familie der Parvoviren (*Parvoviridae*) und dem Genus Dependoparvovirus. AAV wurden Mitte der 1960er-Jahre als virusähnliche Strukturen in Proben von Adenoviren entdeckt (Atchison et al. 1965). Aufgrund dieser Assoziation, die – wie wir heute wissen – darauf beruht, dass sie für ihre Vermehrung die Hilfe anderer, nicht verwandter Viren wie z. B. Adenoviren benötigen, erhielten sie den Namen Adeno-assoziierte Viren (Atchison et al. 1965; Hastie und Samulski 2015). Wann sich diese „Abhängigkeit“¹ entwickelt hat, mit der sie eine Sonderstellung unter den Parvoviren einnehmen, und vor allem welcher evolutionäre Vorteil sich mit dieser „Lebensweise“ verbindet, konnte bisher nicht geklärt werden.

AAV bestehen aus einem Proteinkapsid (Ø 20–25 nm), das das virale Genom transportiert und die Zellinfektion vermittelt (siehe Abb 4.1) (Büning und Srivastava 2019). Das virale Genom ist selbst für ein Virus sehr klein – es umfasst eine einzelsträngige Desoxyribonukleinsäure (DNA) mit einer Größe von etwa 5 Kilobasen (kb).² Die beiden Enden des viralen Genoms bestehen aus einer palindromischen Sequenz, die nach der Freisetzung aus dem Kapsid eine T-förmige Struktur

¹Daher auch die Klassifizierung als Dependoparvoviren.

²Also 5.000 Einzelbausteine (Basen bzw. Nukleotide); das Genom des Cytomegalievirus ist z. B. fast 50-mal größer.

N. M. Jäschke · H. Büning (✉)

Institut für Experimentelle Hämatologie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland

e-mail: Buening.Hildegard@mh-hannover.de

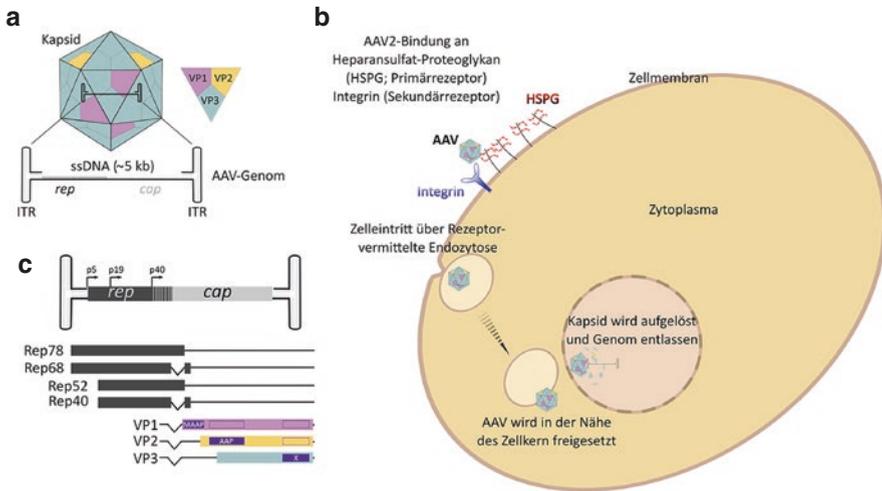


Abb. 4.1 Aufbau Adeno-assoziierten Viren und erste Schritte der Zellinfektion

(a) Schematische Darstellung des ikosaedrischen AAV-Kapsids, das aus insgesamt 60 Untereinheiten besteht, zu dem die Kapsidproteine VP1, VP2 und VP3 in einem Verhältnis 1 zu 1 zu 10 beitragen. Das Virusgenom ist eine einzelsträngige DNA mit T-förmigen DNA-Doppelstrangstrukturen (ITRs) am 5'- und 3'-Ende (weitere Informationen siehe Abschn. 4.1).

(b) Um eine Zelle zu infizieren (AAV) oder zu transduzieren (AAV-Vektoren), interagieren die Partikel zunächst mit Primär- und Internalisierungsrezeptoren. Anschließend erfolgt die Aufnahme über eine rezeptorvermittelte Endozytose. Im Zellkern erfolgt die Freisetzung des Genoms aus dem Kapsid und damit für die Viren die Replikations- oder Latenzphase, in Abhängigkeit von der Anwesenheit eines Helfervirus. Nach Freisetzung des Vektorgenoms formt sich ein Episom, das als Vorlage für die Genexpression dient (weitere Informationen siehe Abschn. 4.1).

(c) Schematische Darstellung des AAV-Genoms mit *rep*- und *cap*-Genen. Die *rep*-Gene werden dabei von zwei verschiedenen Promotoren (p5 und p19) initialisiert. Vom p5 werden Rep78 und Rep68 transkribiert, die identisch sind, aber unterschiedlich gespleißt werden. Das finale protein-codierende Transkript ist jeweils als Balken (dunkelgrau) dargestellt, das gesamte Transkript enthält zusätzlich den als Strich (dunkelgrau) dargestellten Bereich (nicht translatierte Sequenz). Der p19-Promotor erzeugt die Proteine Rep52 und Rep40. Diese sind C-terminal identisch mit Rep78/68 und nur N-terminal verkürzt. Der p40-Promotor ermöglicht die Transkription der Kapsidproteine VP1, VP2 und VP3. Die Transkripte sind identisch, es werden allerdings unterschiedliche Startcodons (nicht dargestellt) verwendet, um die Translation zu initiieren. Die Proteine sind weitestgehend identisch, lediglich in ihrem N-terminalen Bereich verkürzt. Die VP-Transkripte codieren zudem für drei weitere Proteine, die sich jeweils in einem anderen Leserahmen befinden: MAAP, AAP und Protein X (weitere Informationen siehe Abschn. 4.1)

einnimmt. Diese Sequenzen, die als invertierte terminale Wiederholungen („inverted terminal repeats“, ITRs) bezeichnet werden, schützen das virale Genom vor einem Abbau in der Wirtszelle. Zudem werden sie benötigt, um das Genom zu replizieren und die neu replizierten Genome mithilfe von AAV-spezifischen Proteinen (Rep-Proteine, siehe unten) in AAV-Kapside zu verpacken (siehe Abb. 4.1).

Das virale Genom enthält nur zwei Gene: *rep* und *cap* (siehe Abb. 4.1). Das *rep*-Gen codiert für die Rep-Proteine, die die Interaktion mit der Wirtszelle regulieren und essenziell für die Ausbildung neuer Viruspartikel sind. So fungieren sie als

Transkriptionsaktivatoren und -repressoren, vermitteln die sequenzspezifische Integration des AAV-Genoms in das Genom der Wirtszelle sowie die virale Replikation.³ Zudem werden sie – wie bereits erwähnt – benötigt, um die neugebildeten AAV-Partikel mit dem viralen Genom zu beladen.

Das *cap*-Gen codiert für die Kapsidproteine, die als virale Proteine (VP) 1, VP2 und VP3 bezeichnet werden (Büning und Srivastava 2019). Die Aminosäuresequenz des kleinsten Kapsidproteins (VP3) findet sich als C-terminaler Bereich⁴ auch in VP2 und VP1 (siehe Abb. 4.1c). VP2 und VP1 besitzen in ihrem N-terminalen Bereich Domänen mit besonderen Aufgaben während der Zellinfektion wie z. B. Sequenzen, die den Transport in den Zellkern vermitteln (Kernlokalisierungssignale) oder enzymatisch aktiv sind (Phospholipase-Domäne; siehe unten). Je fünf VP1-, fünf VP2- und 50 VP3-Proteine assemblieren sich zu einem AAV-Kapsid – ein Vorgang, der im Kern der Wirtszelle stattfindet und die Unterstützung eines weiteren AAV-Proteins benötigt, das als „assembly activating protein“ (AAP) bezeichnet wird. Das AAP wird in einem alternativen offenen Leserahmen des *cap*-Gens codiert (Büning und Srivastava 2019). Weitere Nichtstrukturproteine, die ebenfalls im *cap*-Gen codiert vorliegen und eine Rolle bei der Virusvermehrung spielen, sind das „membrane associated accessory protein“ (MAAP) (Ogden 2019) und Protein X (Büning und Srivastava 2019).

AAV werden in Serotypen⁵ und Varianten unterteilt. Als Ausgangsbasis für die Entwicklung der AAV-Vektoren werden vor allem Serotypen verwendet, die natürlicherweise in Primaten (inkl. des Menschen) vorkommen (Large und Chapman 2023). Die AAV-Serotypen unterscheiden sich u. a. in der Aminosäuresequenz ihrer Kapsidproteine, vor allem in den Bereichen, die für die Zellinfektion von Bedeutung sind und bevorzugt von Antikörpern gebunden werden. Daher verwenden die verschiedenen Serotypen auch unterschiedliche Rezeptoren⁶ zur Zellinfektion (Large und Chapman 2023). Obwohl alle Serotypen einen eher breiten Tropismus aufweisen, d. h. viele verschiedene Zelltypen und daher Organe und Gewebe infizieren bzw. als Vektoren transduzieren⁷ (Büning und Srivastava 2019), spiegeln sich die Unterschiede in der Wahl der Rezeptoren in der Effizienz wider, mit der bestimmte Gewebe transduziert werden. So eignen sich z. B. Vektoren, die auf den AAV-Serotypen 1 (AAV1), 2, 6, 7, 8, 9 und 12 beruhen, besonders gut für den Gentransfer in den Skelettmuskel, während z. B. AAV3 besser geeignet ist, um Zellen des Innenohrs zu transduzieren (Issa et al. 2023).

³Replikation ist die Vervielfältigung bzw. Vermehrung der viralen Erbinformation als Voraussetzung für die Generierung neuer Viruspartikel.

⁴Proteine werden von links nach rechts gelesen, vom N-Terminus (Ende) zum C-Terminus.

⁵Die Kategorisierung von Viren (wie auch Bakterien) in Serotypen basiert auf der Erkennung durch spezifische Antikörper in sog. serologischen Testverfahren.

⁶Als Rezeptoren werden hier die Oberflächenmoleküle auf Zellen bezeichnet, die von den Viren als Kontaktpunkte und Eintrittspforte benutzt werden.

⁷Von Viren abgeleitete Vektoren wurden so modifiziert, dass sie nicht mehr zu einer Vermehrung und damit produktiven Infektion in der Lage sind. Zugleich benutzen sie i. d. R. den gleichen (natürlichen) Prozess des Zelleintritts wie die Ursprungsviren. In Abgrenzung von der Infektion, aber auch von physiko-chemischen Verfahren der genetischen Modifikation (Transfektion), wird der Prozess der Genübertragung mit viralen Vektoren daher als Transduktion bezeichnet.

Trotz der erwähnten Unterschiede erfolgt die eigentliche Zellinfektion nach einem einheitlichen Mechanismus (siehe Abb. 4.1b). Der erste Kontakt ist eine Bindung des Kapsids an bestimmte Bestandteile der Extrazellulärmatrix, z. B. interagieren AAV2, 3B und 13 mit Heparansulfatproteoglykanen (Large und Chapman 2023). Anschließend erfolgt die Aufnahme über eine rezeptorvermittelte Endozytose,⁸ wodurch die Partikel in das endosomale System der Zellen gelangen. AAV enthaltene Endosomen werden mithilfe des intrazellulären Transportsystems von der Peripherie in Richtung Zellkern transportiert. Durch die Ansäuerung der Endosomen als Teil des natürlichen Reifungsprozesses wird im Kapsid eine Konformationsänderung induziert, wodurch die N-terminalen Bereiche von VP1 und VP2 auf der Kapsidoberfläche erscheinen und nun ihre Funktion im Infektionsprozess wahrnehmen können (Popa-Wagner et al. 2012). Hierbei spielt die Phospholipaseaktivität (PLA2, siehe auch oben) eine entscheidende Rolle. Mit ihrer Hilfe können die Viren die Membran des Endosoms durchdringen und damit das endosomale System verlassen. Außerhalb des Endosoms ist das AAV auf die Unterstützung durch bestimmte Proteine der Wirtszelle angewiesen wie z. B. AAVR („adeno associated virus receptor 1“)⁹ und GPR108 („G Protein-Coupled Receptor 108“), um in den Zellkern transportiert zu werden (Dudek et al. 2020; Zhang et al. 2019). Im Zellkern erfolgt die Freisetzung des viralen Genoms aus dem Kapsid. Befinden sich in der Wirtszelle AAV-Helferviren (wie z. B. Adenoviren), wird die AAV-Vermehrung eingeleitet. Hierzu wird zunächst das einzelsträngige AAV-Genom in einen DNA-Doppelstrang überführt. Hierfür werden zelluläre Faktoren rekrutiert, die in der Wirtszelle DNA-Schäden reparieren. Anschließend werden die viralen Gene transkribiert¹⁰ und im Zytoplasma translatiert.¹¹ Die viralen Proteine werden zurück in den Zellkern transportiert, um die virale Replikation zu vermitteln, neue Kapside zu assemblieren und mit viralen Genomen zu versehen. Die Freisetzung aus der Wirtszelle erfolgt anschließend zusammen mit den Helferviren. Sind keine Helferviren in der AAV-infizierten Zelle anwesend, erfolgt entweder die Integration des viralen Genoms in die Wirtszelle (vermittelt über Rep-Proteine) oder die Ausbildung eines Episoms, das extrachromosomal verbleibt. Die Transkription der viralen Gene unterliegt hierbei einer strengen Kontrolle durch die Rep-Proteine, um den Zustand der Latenz¹² aufrechtzuerhalten, bis die Wirtszelle von einem passenden Helfervirus infiziert wird.

⁸Zellen sind in der Lage, Substanzen von außerhalb aufzunehmen, dieser Prozess wird als Endozytose bezeichnet. Dabei werden die Substanzen innerhalb der Zelle weiterverarbeitet. Diese Prozesse finden im sog. endosomalen System statt. Ein Endosom ist ein Vesikel, das von der Oberfläche der Zelle nach innen abgeschnürt wurde und extrazelluläre Bestandteile transportiert.

⁹Aufgrund der Entdeckungshistorie des AAVR wurde dieser Rezeptor als erstes in Verbindung mit dem AAV beschrieben. Die eigentliche Funktion dieses Proteins (nur in Verbindung mit dem AAV als Rezeptor zu bezeichnen) ist bisher unbekannt (Stand 2023).

¹⁰Bei der Transkription handelt es sich um das Ablesen der DNA, wobei die dort befindlichen Informationen in die Boten- bzw. mRNA übertragen/abgeschrieben werden.

¹¹Als Translation wird das Übersetzen von mRNA in Proteine bezeichnet (Ablesen der mRNA und Information zu Protein umschreiben).

¹²Latenz bedeutet, dass das Virus im Verborgenen verbleibt, bis es in der Lage ist seinen Vermehrungszyklus zu starten.

4.2 Die Verwandlung in einen Vektor

Die raffinierten Strategien, die Viren nutzen, um ihre Erbinformation in Zellen einzuschleusen und Zellen davon zu „überzeugen“, unter Einsatz ihrer eigenen Ressourcen Proteine zu produzieren, werden in den von ihnen abstammenden Vektoren weiterverwendet. Im Falle von AAV vermittelt – wie bereits ausgeführt – das Kapsid die Zellinfektion. Besitzt die Zielzelle auf ihrer Oberfläche Rezeptoren, die von einem AAV-Serotyp erkannt und zur Infektion verwendet werden können, dann kann dieses AAV-Kapsid als Ausgangsbasis für den entsprechenden Vektor eingesetzt werden. Das Kapsid wird nun nicht mit dem Virusgenom beladen, sondern erhält ein sog. Vektorgenom (siehe Abb. 4.2a). Dieses besteht i. d. R. aus dem Gen, das in die Zelle eingeschleust werden soll, sowie Elementen, die die Expression des Gens steuern (Promotor) sowie sein Ende markieren (polyA-Sequenz). Um die Beladung des Kapsids zu ermöglichen, werden die ITR-Sequenzen als 5'- und 3'-Ende des Vektorgenoms beibehalten. So ausgestattet können die AAV-Vektoren ihre Zielzelle nach demselben Mechanismus infizieren (jetzt: transduzieren, siehe Abschn. 4.1) wie die Ausgangsviren. Nach der Freisetzung des Vektorgenoms im Zellkern bilden die Vektorgenome bevorzugt Episome, die als Matrize für die Genexpression dienen. In sich teilenden Zellen „halbiert“ sich die Anzahl der Episome pro Zelle mit jeder Zellteilung,¹³ sodass der therapeutische Effekt vermittelt über Episome nur vorübergehend zur Verfügung steht, insofern das Gewebe mitotisch¹⁴ aktiv ist. Um dies zu verhindern, können sog. „autonomous replication units“ in das AAV-Genom integriert werden, wodurch die Episome von der Wirtszelle vermehrt (repliziert) werden (Hagedorn et al. 2017). In ruhenden oder sich nur sehr selten teilenden Zellen wie z. B. den Hepatozyten in der Leber oder den Muskelzellen lassen sich mit Episomen langanhaltende Therapieeffekte erreichen (Muhuri et al. 2022). Im Gegensatz zu retroviralen oder lentiviralen Vektoren, die ihr Vektorgenom routinemäßig durch Integration im Genom der Zielzelle verankern, findet ein Einbau von AAV-Vektorgenomen nur in Ausnahmefällen, wie z. B. während DNA-Reparaturprozessen, statt.¹⁵ Dabei erfolgt der Einbau der AAV-Vektorgenome an Stellen, an denen ein DNA-Doppelstrangbruch durch das zelluläre DNA-Reparatursystem behoben werden musste. Diese Interaktion zwischen dem AAV-Vektorgenom und der Zelle kann für gentherapeutische Zwecke ausgenutzt

¹³Die Episome werden gleichmäßig zwischen beiden Tochterzellen verteilt.

¹⁴Als Mitose wird die Zellteilung bezeichnet. Mitotisch aktive Zellen teilen sich fortwährend, während postmitotische Zellen/Gewebe keine Zellteilungen mehr durchführen (in adulten Organismen teilen sich Muskelzellen und Nervenzellen nicht mehr).

¹⁵Die i. d. R. niedrige Integrationsfrequenz von AAV-Vektoren hängt von vielen Parametern ab. Parameter sind u. a. die Vektordosis, der Applikationsweg, das Organ/Gewebe, das eingebrachte Transgen, die Reparaturaktivität in der transduzierten Zelle. In Proben aus einer klinischen Studie wurden Frequenzen zwischen 10^{-5} (1 Integration in 100.000 modifizierten Zellen) bis 10^{-4} beschrieben (Kaeppl et al. 2013). Vergleichbare Frequenzen wurden in Muskelgewebe und Leber in einem Großtiermodell beobachtet (Nowrouzi et al. 2012). In einem humanisierten Mausmodell wurden unter Selektionsbedingungen Frequenzen bis 10^{-2} (1 Integration in 100 modifizierten Zellen; Dalwadi et al. 2021) beschrieben.

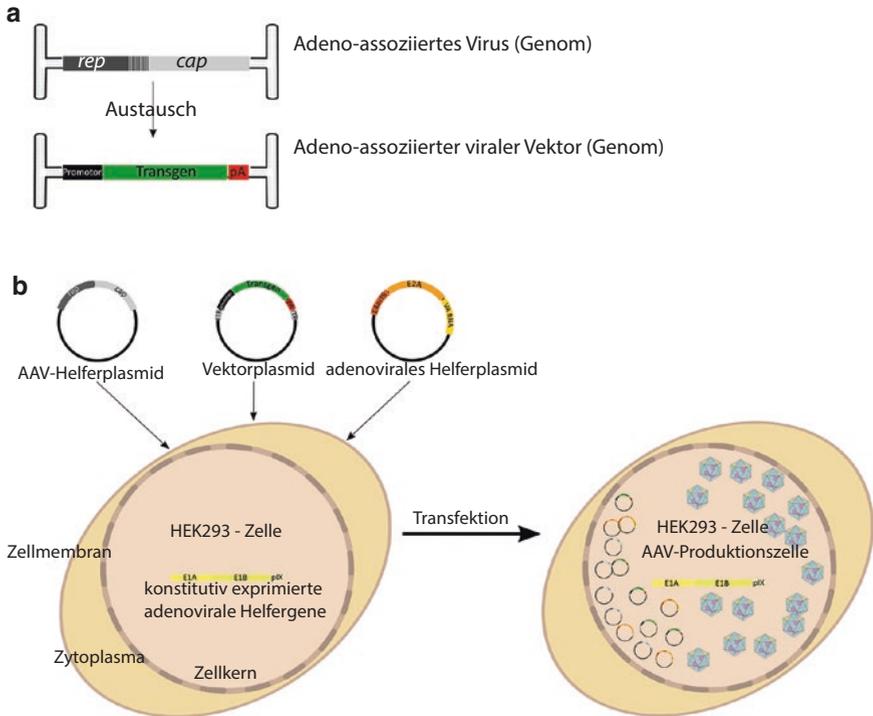


Abb. 4.2 Adeno-assoziierte Viren als virale Vektoren

(a) Ein viraler Vektor wird als Genfähre (zum Transfer eines Transgens) genutzt. Im Fall der AAV-Vektoren wird der gesamte Virusgen-codierende Bereich durch die Expressionskassette mit dem/n gewünschten Transgen/en ersetzt.

(b) Schematische Darstellung der ersten Schritte der AAV-Produktion über Plasmidtransfektion mit AAV-Helferplasmid, Vektorplasmid und adenoviralem Helferplasmid. HEK293-Zellen, die häufig als Produktionszellen verwendet werden, enthalten einen Teil des adenoviralen Genoms* (*E1A* und *E1B*) in ihrem Genom integriert, wodurch das adenovirale Helferplasmid nur für die Bereitstellung der weiteren für die AAV-Vermehrung essenziellen Helferfunktionen (*E2A*, *E4orf6* und die VA-RNA) benötigt wird. Das AAV-Helferplasmid codiert für das *rep*-Gen (gewöhnlich von AAV2) sowie das *cap*-Gen des benötigten AAV-Serotyps. Vektorplasmide bringen die Vorlage für das Genom des AAV-Vektors, d. h. Promotor, Transgen und polyA-Signal, in die Zelle ein. Diese Sequenz befindet sich zwischen den ITRs vom Serotyp 2. Wenn alle drei Komponenten (Plasmide) in der Produktionszelle vorliegen, können AAV-Vektoren erzeugt werden. Dabei erfolgt der Zusammenbau des Kapsids und die Beladung mit dem Vektorgenom im Zellkern. Die Lokalisation der assemblierten AAV-Vektoren im Zellkern erfordert es, die Zellen „aufzubrechen“, um die Vektoren aus den Produktionszellen herauszuholen. Neben den Zellen wird auch häufig der Kulturüberstand gesammelt, um Vektoren, die in den Kulturüberstand abgegeben wurden, ebenfalls zu gewinnen. Die Aufreinigung und Aufkonzentrierung der Vektoren erfolgt über einen Ultrazentrifugationsschritt und/oder eine Affinitätschromatographie ggf. gefolgt von Umpufferungsschritten. *Die integrierte Sequenz des Adenovirus Ad5 codiert ebenfalls für das pIX-Protein des Adenovirus, das ein Bestandteil des Adenoviruskapsids ist und an der Stabilität des Adenoviruskapsids beteiligt ist. Für die AAV-Produktion ist das pIX nicht essenziell, kann aber die AAV-Vektorproduktion erhöhen (unbekannte Funktion)

werden: Im Rahmen der Reifung von T-Lymphozyten kommt es z. B. vermittelt über die enzymatische Aktivität von RAG („recombination activating genes“) zu DNA-Doppelstrangbrüchen in den T-Zellrezeptorgenen. Sind zu diesem Zeitpunkt AAV-Vektorgenome in der Zelle vorhanden, können diese ortsspezifisch in diese Gene integriert werden (Calabria et al. 2023).

Aber wie erfolgt die Herstellung von AAV-Vektoren? AAV-Vektoren werden in sog. Produktionszellen (genauer Produktionszelllinien) erzeugt. Hierzu verwendet man i. d. R. HEK293-Zellen¹⁶ oder Insektenzellen (Penaud-Budloo et al. 2018). Wie in Abb. 4.2b gezeigt, werden HEK293-Zellen z. B. mit Plasmiden transfiziert, die alle AAV-spezifischen Gene (AAV-Helferplasmid), bestimmte adenovirale Genfunktionen (adenovirales Helferplasmid) sowie das Vektorgenom (Vektorplasmid) bereitstellen. Werden Insektenzellen zur AAV-Vektorproduktion verwendet, werden die Zellen nicht mit Plasmiden transfiziert, sondern mit rekombinanten Baculoviren infiziert, die die entsprechenden genetischen Informationen bereitstellen. Neben der Transfektion von HEK293-Zellen mit Plasmiden bedient man sich auch anderer Strategien zur Einbringung der AAV-spezifischen Gene sowie der Vektorgenome wie z. B. der Infektion mit rekombinanten Herpesviren (Penaud-Budloo et al. 2018).

4.3 AAV-Vektoren im Dienst der Gentherapie

Erhalten Patienten eine Gentherapie, so werden ihnen – je nach Behandlungsstrategie – entweder gentherapeutisch behandelte Zellen infundiert (Ex-vivo-Gentherapie) oder Vektoren (Genfähren) appliziert (In-vivo-Gentherapie). Bei der In-vivo-Gentherapie unterscheidet man die lokale Anwendung, bei der z. B. Vektoren in den Muskel injiziert werden, von der systemischen Gabe, bei der die Vektoren per Infusion in die Blutbahn verabreicht werden. Die mit Abstand am häufigsten verwendeten Vektoren für die In-vivo-Gentherapie sind die AAV-Vektoren. Bereits bei der ersten Anwendung von AAV-Vektoren innerhalb einer klinischen Studie wurden die Vektoren direkt in vivo, und zwar auf das nasale Epithel aufgebracht, um eine funktionale Kopie des CFTR-Gens („Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator“) in Zellen von Patienten mit Cystischer Fibrose (auch Mukoviszidose genannt) einzuschleusen (Loring et al. 2016). Bei Patienten mit Cystischer Fibrose kann von keiner ihrer beiden Genkopien (Allele) ein funktionelles CFTR-Protein bereitgestellt werden. CFTR ist ein Protein, das in der Membran spezifischer Zellen einen Chloridionenkanal formt. Ist diese Funktion gestört, kommt es zur Veränderung in der Zusammensetzung von Drüsensekreten, die zähflüssig werden. Da für die Erkrankung der Defekt eines einzelnen Gens ursächlich ist, spricht man von einer monogenen Erkrankung. Behandlungsoptionen für monogene Erkrankungen zu schaffen, stellt das ursprüngliche Ziel der Gentherapie dar. Die meisten Anwendungen für das AAV-Vektorsystem finden sich auch heutzutage in diesem Be-

¹⁶Human-Embryonic-Kidney(HEK)-Zellen wurden im Jahr 1977 (Graham et al. 1977) mithilfe von DNA-Fragmenten eines Adenovirus (Ad5) immortalisiert, diese Zellen eignen sich aufgrund des Ad5-Genomabschnitts (Helfervirusgene) hervorragend zur Produktion von AAV-Vektoren.

reich (Kuzmin et al. 2021). Mit der Erweiterung des Anwendungsspektrums der Gentherapie auf Bereiche wie Infektionserkrankungen oder Tumorerkrankungen hat sich aber auch das Anwendungsspektrum der AAV-Vektoren erweitert (Hacker et al. 2020; Mulcrone et al. 2022; Stone et al. 2021).

Die Leber, die Skelettmuskulatur, das Auge sowie das zentrale Nervensystem (ZNS) stellen bisher die häufigsten Zielorgane für klinische Studien im Bereich der AAV-vektorvermittelten Gentherapie für monogene Erkrankungen dar (Kuzmin et al. 2021). Im Jahr 2012 erfolgte die erste Zulassung einer Gentherapie in der westlichen Welt durch die europäische Zulassungsbehörde (European Medicines Agency, EMA). Dies war ein bedeutender Schritt für die Gentherapie. Bei dieser ersten zugelassenen Gentherapie, bekannt unter dem Namen Alipogene tiparvovec (Glybera®), handelte es sich um eine lokale In-vivo-Gentherapie für Patienten mit Lipoproteinlipase-Defizienz (siehe Tab. 4.1). Hierbei werden AAV1-Vektoren, die mit der genetischen Information für eine natürlich vorkommende hyperaktive Version des Enzyms Lipoproteinlipase ausgestattet sind, in den Skelettmuskel appliziert (Gaudet et al. 2013). Bei der extrem seltenen Lipoproteinlipase-Defizienz, die mit einer Inzidenz von 1 zu 300.000 auftritt,¹⁷ fehlt dieses Enzym, das eine zentrale Rolle bei der Verarbeitung von Chylomikronen und „very-low density“-Lipoproteinen (VLDL) spielt. Dadurch kommt es zur Anreicherung von Triglyzeriden im Blut und in der Folge zu immer wiederkehrenden, zum Teil schweren Krankheitsepisoden (z. B. Entzündungen der Bauchspeicheldrüse).¹⁸ Da die Lipoproteinlipase natürlicherweise in Fettgewebe und Muskel produziert und von diesen ins Blut abgegeben wird, um sich dann an den Endothelzellen anzulagern und die Triglyzerid-reichen Lipoproteine aus dem Blut zu entfernen, wurde Glybera® als eine intramuskuläre Therapie entwickelt (Gaudet et al. 2013). Nach der Zulassung wurde allerdings nur ein Patient mit dieser Therapie behandelt.¹⁹ Die hohen Kosten der Therapie und die geringe Nachfrage aufgrund der Inzidenz und des bürokratischen Aufwandes führten dazu, dass Glybera® im Oktober 2017 vom Markt genommen wurde (siehe auch Alex/König, Kap. 22).²⁰

Auch die zweite der bisher insgesamt sechs zugelassenen AAV-vektorbasierten Gentherapien – bekannt unter dem Namen Voretigen Neparvovec (Luxturna®) (siehe Tab. 4.1) – wird lokal angewendet und ist eine Gensupplementationstherapie (Genadditionstherapie).²¹ Luxturna® wird zur Behandlung von Patienten mit erbli-

¹⁷ Siehe unter: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=DE&Expert=444490 [18.05.2023].

¹⁸ Siehe unter: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_HPOTerms.php?lng=DE&data_id=23491&Typ=Pat&diseaseType=Pat&from=rightMenu [14.05.2023].

¹⁹ Siehe unter: https://www.wissensschau.de/genom/gentherapie_glybera_lipoproteinlipase-defizienz.php [14.05.2023].

²⁰ Siehe unter: https://www.wissensschau.de/genom/gentherapie_glybera_lipoproteinlipase-defizienz.php [14.05.2023].

²¹ Hierbei wird eine funktionsfähige Version des defekten Gens zusätzlich zu den weiterhin vorhandenen defekten Allelen in die Zielzellen eingebracht.

Tab. 4.1 Zugelassene Gentherapeutika (AAV-vektorbasiert) in Europa (Europäische Union)

Glybera®	
AAV-Serotyp (Wirkstoff)	AAV1 (Alipogene Tiparvovec)
Therapeutisches Gebiet	Hyperlipoproteinämie Typ I (Stoffwechselerkrankungen)
Hersteller	uniQure biopharma B.V. Amsterdam, Niederlande
Autorisierungszeitpunkt	25.10.2012 (Okt. 2017 vom Hersteller vom europ. Markt genommen)
Agency product number*	EMA/H/C/002145
Dosierung	1×10^{12} LPL ^{S447X} vg/kg
Pro	Kontra
Verringerung der Häufigkeit von Pankreatitisepisoden bei Patienten (klinische Studienphase); ^c Nach Zulassung wurde ein Patient behandelt. Patient berichtet über verbesserte Lebensqualität. ^a	Sehr hohe Kosten und nur etwa 200 Patienten in Europa; ^b Enzymproduktion nahm nach Behandlung wieder ab (klinische Phase), sodass die Patienten weiterhin eine strenge Diät einhalten mussten; ^c Im Oktober 2017 wurde das Produkt vom Markt genommen, weil sich zu wenig Patienten für eine Therapie gemeldet hatten und sich die Kostenübernahme durch die Krankenkassen als schwierig erwies.
Luxturna®	
AAV-Serotyp (Wirkstoff)	AAV2 (Voretigen Neparvovec)
Therapeutisches Gebiet	Netzhautdystrophie (Augenerkrankungen)
Hersteller	Novartis Europharm Limited, Dublin (Irland)
Autorisierungszeitpunkt	22.11.2018
Agency product number*	EMA/H/C/004451
Dosierung	$1,5 \times 10^{11}$ vg/Auge
Pro	Kontra
Verbesserte Sicht im Dunkeln und damit bessere Orientierung bei schwachem Licht; ^d Spürbare Verbesserung der Lebensqualität der behandelten Personen; Nachgewiesene anhaltende Wirksamkeit über drei Jahre; ^e Kaum Nebenwirkungen durch den Vektor beschrieben. ^f	Keine signifikante Verbesserung der Sehfähigkeit im Hellen; Operativer Eingriff kann Irritationen bis hin zur Netzhautablösungen erzeugen; es wurden auch Makuladegenerationen beschrieben; Hoher Preis mit etwa 800.000–1.100.000 €. ^g
Zolgensma®	
AAV-Serotyp (Wirkstoff)	AAV9 (Onasemnogen-Abeparvovec)
Therapeutisches Gebiet	Spinale Muskelatrophien (Krankheiten des Nervensystems)
Hersteller	Novartis Europharm Limited, Dublin (Irland)
Autorisierungszeitpunkt	18.05.2020
Agency product number*	EMA/H/C/004750
Dosierung	$1,1 \times 10^{14}$ vg/kg

(Fortsetzung)

Tab. 4.1 (Fortsetzung)

Pro	Kontra
<p>Verbesserung der motorischen Funktionen und gestiegene Überlebensrate; Nebenwirkungen sind in den meisten Fällen vollständig reversibel; Einmalige Verabreichung des Wirkstoffs, andere Therapien (z. B. Spinraza®) müssen wiederholt verabreicht werden.</p>	<p>Sehr hohe Kosten (ca. 2 Mio. €);^h Hohe Vektordosierung kann starke Immunreaktionen erzeugen, prophylaktische Gabe einer Immunsuppression (Corticoidsteroid) zur Unterdrückung der Immunantwort auf Vektor;ⁱ Starke Belastung der Leber (Transaminaseanstieg) Zwei Todesfälle nach Behandlung aufgrund von Leberversagen;^j diesen beiden Todesfällen stehen jedoch mehr als 2.000 behandelte Patienten gegenüber (Stand Juni 2023); Kein Zusatznutzen nach derzeitigem Stand,^k da die Langzeitwirkung noch nicht ermittelt werden konnte.</p>
Upstaza®	
AAV-Serotyp (Wirkstoff)	AAV2 (Eladocogene Exuparvovec)
Therapeutisches Gebiet	Aromatischer-L-Aminosäure-Decarboxylase-(AADC)-Mangel (Stoffwechselerkrankheiten)
Hersteller	PTC Therapeutics International Limited, Dublin (Irland)
Autorisierungszeitpunkt	18.07.2022
Agency product number*	EMA/H/C/005352
Dosierung	0,9 × 10 ¹¹ vg/Putamen
Pro	Kontra
<p>Gesteigerte motorische Fähigkeiten, sowie sprachliche und kognitive Funktionen;^l Verbesserte Dopaminproduktion;^l Mehrfache Wirksamkeit, bis zu 9 Jahre; Moderate Nebenwirkungen (enden nach einigen Wochen).</p>	<p>Frühester Zeitpunkt der Applikation liegt bei 18 Monaten, aufgrund des erhöhten Risikos einer Gehirnoperation an Kindern unter 18 Monaten; Keine Angaben zu den Kosten (Stand Juni 2023).</p>
Roctavian®	
AAV-Serotyp (Wirkstoff)	AAV5 (Valoctocogen Roxaparvovec)
Therapeutisches Gebiet	Hämophilie A (Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe)
Hersteller	BioMarin Europe Ltd., London (Vereinigtes Königreich)
Autorisierungszeitpunkt	24.08.2022
Agency product number*	EMA/H/C/005830
Dosierung	6 × 10 ¹³ vg/kg
Pro	Kontra
<p>80%ige Senkung der Blutungsereignisse;^m 92 % der therapierten Personen können auf vorbeugende Substitutionstherapien verzichten;^m Bisher keine schädigenden Nebenwirkungen beschrieben.^m</p>	<p>Noch kein Zusatznutzen festgestellt (Stand Juni 2023); Nach 76 Wochen Absinken der Faktor-VIII-Konzentration im Blut beobachtet;ⁿ Hohe Kosten, 1,5 Mio. \$ pro Anwendung.^o</p>

Tab. 4.1 (Fortsetzung)

Hemgenix®	
AAV-Serotyp (Wirkstoff)	AAV5 (Etranacogen Dezaparvec)
Therapeutisches Gebiet	Hämophilie B (Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe)
Hersteller	CSL Behring GmbH, Marburg (Deutschland)
Autorisierungszeitpunkt	20.02.2023
Agency product number*	EMA/H/C/005830
Dosierung	2 × 10 ¹³ vg/kg
Pro	Kontra
Vektor bringt 8-fach aktivere Padua-Variante des Faktors IX ein, daher kann eine geringere Expression bereits therapeutisch wirksame Enzymaktivitäten erreichen; ^{p, q} 60%ige Abnahme der Blutungsepisoden 34 % durchschnittliche Aktivität nach Behandlung; ^r Zum Zeitpunkt dieses Berichts sind mindestens fünf Jahre Therapieeffekt beschrieben.	Extrem hohe Kosten, 3,5 Mio. \$ (Stand Juni 2023).

vg: Vektorgenom enthaltende Partikel

* Produktnummer der europäischen Arzneimittel-Agentur (European Medicines Agency, EMA).

^aSchramm, D. (2017): Aufgeben? Auf keinen Fall! DAK-Gesundheitsmagazin, Januar 2017. S. 28.

^bKlein, L. (2014): Glybera-Therapie kostet 1,1 Mio. Euro. DAZ.online, 28.11.2014. Unter: <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/news/artikel/2014/11/28/glybera-therapie-kostet-1-1-millionen-euro> [21.06.2023].

^cEMA: Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels. Unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/glybera-epar-product-information_de.pdf [21.06.2023].

^dRussell, S. et al. (2017): Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy. In: Lancet 390(10097): 849–860.

^eLeroy, B. P. et al. (2022): Gene therapy for inherited retinal disease: long-term durability of effect. In: Ophthalmic Res.

^fGao, J. et al. (2020): Voretigene neparvovec in retinal diseases: a review of the current clinical evidence. In: Clin Ophthalmol. 14: 3855–3869.

^gInstitut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) (2019): Voretigen Neparvovec – Bewertung gemäß § 35a Abs. 1 Satz 11 SGB V. Bericht Nr. 789. Unter: https://www.g-ba.de/downloads/92-975-3040/2019-04-15_Bewertung-Therapiekosten-Patientenzahlen-IQWiG_Voretigen-Neparvovec-D-436.pdf [21.06.2023].

^hInstitut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) (2020): Onasemnogen-Abeparvovec (5q-assoziierte spinale Muskelatrophie) – Bewertung gemäß § 35a Abs. 1 Satz 11 SGB V. Bericht Nr. 967. Unter: https://www.iqwig.de/download/a21-68_onasemnogen-abeparvovec_nutzenbewertung-35a-sgb-v_v1-0.pdf [21.06.2023].

ⁱZolgensma Produktinformationen, EPAR Product information. Unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolgensma-epar-product-information_en.pdf [21.06.2023].

^jPharmazeutische Zeitung (2022): Novartis bestätigt Todesfälle nach Zolgensma-Therapie, 12.08.2022. Unter: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/novartis-bestaetigt-todesfaelle-nach-zolgensma-therapie-134952/> [21.06.2023].

(Fortsetzung)

Tab. 4.1 (Fortsetzung)

^kGemeinsamer Bundesausschuss (G-BA) (2021): Pressemitteilung. Arzneimittel gegen seltene Krankheiten: Gentherapie Libmeldy[®] zeigt Zusatznutzen – Zelltherapie Zolgensma[®] dagegen nicht. Nr. 39/2021. Unter: <https://www.g-ba.de/presse/pressemitteilungen-meldungen/995/> [21.06.2023].

^lTai, C.-H. et al. (2022): Long-term efficacy and safety of eladocogene exuparvec in patients with AADC deficiency In: *Mol Ther.* 30(2): 509–518.

^mWu, L. (2023): BioMarin buffs up data on hemophilia A gene therapy as FDA decision deadline approaches. *Endpoints News*, 09.01.2023. Unter: <https://endpts.com/biomarin-buffs-up-data-on-hemophilia-a-gene-therapy-as-fda-decision-deadline-approaches/> [21.06.2023].

ⁿMahlangu, J. et al. (2023): Two-year outcomes of valoctocogene roxaparvec therapy for hemophilia A. In: *N Engl J Med.* 2388(8): 694–705.

^oBell, J. (2020): With European approval secured, BioMarin puts roughly \$1,5 M price tag on hemophilia gene therapy. *BioPharma Dive*, 25.08.2020. Unter: <https://www.biopharmadive.com/news/with-european-approval-secured-biomarin-puts-roughly-15m-price-tag-on-he/630501/> [21.06.2023].

^pVandenDriessche, T./Chuah, M. K. (2018): Hyperactive factor IX padua: a game-changer for hemophilia gene therapy. In: *Mol Ther.* 26(1): 14–16.

^qHemgenix Produktinformationen, EPAR Product information. Unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/hemgenix-epar-product-information_en.pdf [21.06.2023].

^rWissensschau.de (2023): Hemgenix: Gentherapie gegen Hämophilie B. 24.02.2023. Unter: https://www.wissensschau.de/genom/gentherapie_hemgenix_haemophilie-b.php [21.06.2023].

cher Netzhautdystrophie („inherited retinal diseases“, IRD) verwendet, die durch eine Mutation im RPE65-Gen verursacht wird (Aoun et al. 2021). Patienten besitzen im Kindesalter meistens eine annähernd normale Sehschärfe, die sich aber mit zunehmendem Alter so weit verschlechtert, dass sie im vierten Lebensjahrzehnt erblindet sind (Aoun et al. 2021).

Luxturna[®] ist ein AAV2-Vektor, der für das RPE65-Gen codiert (Aoun et al. 2021). Luxturna[®] wird nach Vitrektomie subretinal injiziert, wobei beide Augen in einem zeitlichen Abstand von maximal 6 Tagen behandelt werden.²²

Bereits im Jahr 2017 wurde durch die EMA mit Nusinersen (Spinraza[®]) eine antisense Oligonukleotid(ASO-)basierte Therapie zur Behandlung der spinalen Muskelatrophie zugelassen, die alle 4 Monate intrathekal verabreicht wird. Dieser Zulassung folgte im Jahr 2020 die Zulassung von Onasemnogene abeparvec (Zolgensma[®]), einer AAV-vektorbasierten Gentherapie (siehe Tab. 4.1). Bei Zolgensma[®] handelt es sich um eine Gensupplementationstherapie mit einem AAV9-Vektor, der intravenös verabreicht wird. Ein Jahr später wurde mit Risdiplam (Evrysdi[®]) eine weitere Therapie zugelassen. Evrysdi[®] beeinflusst die Reifung der mRNA des SMN2-Gens (siehe unten) und wird oral ab einem Alter von 2 Monaten verabreicht (Kotulska et al. 2021).

Die spinale Muskelatrophie Typ 1 (SMA Typ 1) ist eine neuromuskuläre Erkrankung, die durch Verlust oder Veränderungen im SMN1-Gen („survival of motor neuron“, SMN) verursacht wird. Fehlt das SMN-Protein, kommt es zum Verlust der spinalen Motoneuronen und in der Folge zu Muskelschwäche und -atrophie. Die

²²Siehe unter: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/arsneistoffe/daten/2019/voretigen-neparovoecluxturnar422019/> [14.05.2023].

Ausprägung der Erkrankung hängt sehr stark von der Anzahl an SMN2-Genkopien ab. Das SMN2-Gen unterscheidet sich vom SMN1-Gen durch eine Mutation, die dazu führt, dass nur 10–15 % der Transkripte als Vorlage für die Produktion des SMN-Proteins dienen können (Kotulska et al. 2021). Besitzt ein Patient jedoch mehrere SMN2-Genkopien, summiert sich die Menge an SMN, wodurch sich der Schweregrad der Erkrankung verringert (Kotulska et al. 2021). Während Spinraza® und Evrysdi® unterschiedliche molekulare Ansätze nutzen, um in den Nervenzellen ausgehend vom SMN2-Gen möglichst viel SMN-Protein herstellen zu lassen,²³ wird durch die einmalige Gabe von Zolgensma® eine funktionale Kopie des SMN1-Gens eingebracht. Da Zolgensma® intravenös verabreicht wird, der Hauptwirkort jedoch die Motoneuronen sind, müssen die Vektoren über die Bluthirnschranke in das ZNS transportiert werden. Hierbei macht man sich zunutze, dass AAV9-Vektoren zu einem gewissen Maß in der Lage sind, die Bluthirnschranke zu überwinden. Um eine ausreichende Versorgung sicherzustellen, müssen allerdings sehr hohe Mengen an AAV9-Vektoren appliziert werden ($1,1 \times 10^{14}$ AAV9-Vektoren pro Kilogramm Körpergewicht).²⁴ Diese große Menge an infundierten Vektorpartikeln kann zu schweren, in sehr seltenen Fällen tödlichen Nebenwirkungen führen.²⁵

Mit einer Inzidenz von 1 zu 11.000 (in der Bundesrepublik 1 zu 7.000) zählt die SMA Typ 1 zu den häufigsten monogenen Erkrankungen (Kotulska et al. 2021). Aufgrund ihres schweren Verlaufs und – bis zur Einführung der genannten Therapien – fehlender Therapieoptionen galt sie als die häufigste Todesursache im Kindesalter (Kotulska et al. 2021). Durch die Einführung von Spinraza® und Zolgensma® stehen nun Medikamente zur Verfügung, die sehr früh zur Behandlung der SMA Typ 1 eingesetzt werden können. In vielen Ländern wurde zudem SMA Typ 1 in das Neugeborenen-Screening aufgenommen, um eine präsymptomatische Behandlung zu ermöglichen. Dies ist eine wichtige Entwicklung, da sich eine Behandlung zu einem frühestmöglichen Zeitpunkt günstig auf den Therapieerfolg auswirkt (Motyl und Gillingwater 2022).

Im Jahr 2022 erhielten gleich zwei AAV-vektorbasierte Gentherapien eine Zulassung durch die EMA, Eladocogene exuparvec (Upstaza®) und Valoctocogene roxaparvec (Roctavian®) (siehe Tab. 4.1). Upstaza® ist eine lokale Gensupplementationstherapie

²³Während Spinraza® die Mutation in der SMN2-mRNA überdeckt und damit die Ausbildung des SMN-Proteins ermöglicht, verringert Evrysdi® die Häufigkeit, mit der die Mutation in der Zelle als Signal erkannt wird, um die mRNA an dieser Stelle zu spleißen, d. h. einen Teil der Sequenz zu entfernen. Siehe unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information_de.pdf [14.05.2023]; https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/evrysdi-epar-product-information_de.pdf [14.05.2023].

²⁴Also mehr als 100.000 Mrd. (bzw. mehr als 100 Billionen) Partikel pro kg. Daraus ergab sich, dass die Firma Novartis in der Anfangszeit nach Zulassung zunächst nicht in der Lage war, den weltweiten Bedarf an Zolgensma® zu decken. Dies führte 2020 zu einer akuten Unterversorgung und damit verbundenen ethischen Problemen (siehe Alex/König, Kap. 22).

²⁵U. a. traten Fälle akuter Gefäßschädigungen (thrombotische Mikroangiopathie, TMA) und akuten Leberversagens auf (siehe unter: <https://www.pei.de/DE/newsroom/veroeffentlichungen-arzneimittel/sicherheitsinformationen-human/2023/ablage2023/2023-02-16-rhb-zolgensma.html> [14.05.2023]).

zur Behandlung des Aromatischen L-Aminosäure-Decarboxylase(AADC)-Mangels. Die Aufgabe der AADC ist die Umwandlung von L-3,4-Dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) in Dopamin, einen wichtigen Neurotransmitter (Keam 2022). Patienten mit einem AADC-Mangel weisen einen Mangel an Noradrenalin, Adrenalin, Serotonin, Melatonin sowie Dopamin auf. Dadurch kommt es bei den Betroffenen zu Entwicklungsverzögerungen und einem schwachen Muskeltonus. Zudem können die Betroffenen die Bewegungen ihrer Gliedmaßen nicht kontrollieren. Die Wirksamkeit von Upstaza® wurde in drei klinischen Studien mit insgesamt 28 Patienten getestet und basierend auf der deutlichen Verbesserung der motorischen Fertigkeiten sowie einer Steigerung der kognitiven und sprachlichen Fähigkeiten erfolgte die Zulassung für Patienten ab einem Alter von 18 Monaten²⁶ (Keam 2022). Als Gentransfervehikel werden AAV2-Vektoren, die eine Kopie des Dopa-Decarboxylase(DCC)-Gens, das für AADC codiert, verwendet (Keam 2022; Opladen et al. 2021). Sie werden mithilfe einer stereotaktischen Operation in Bereiche mit hoher Anzahl an dopaminergen Neuronen, sprich in beide Putamen²⁷ (zwei Injektionen pro Putamen), übertragen (Keam 2022; Opladen et al. 2021).

Mit der Zulassung von Roctavian®, einem gentherapeutischen Ansatz zur Behandlung der Hämophilie A, und wenig später (2023) von Etranacogene dezaparvovec (Hemgenix®) zur Behandlung der Hämophilie B erfolgte ein bereits sehr lange erwarteter Schritt.²⁸ Hämophilien zählen zu den häufigsten monogenen Erbkrankheiten²⁹ – die Inzidenz des Faktor-VIII-Mangels (Hämophilie A) liegt bei 1 zu 5.000 männlichen Geburten. Etwa fünfmal seltener (1 zu 25.000) tritt der Faktor-IX-Mangel (Hämophilie B) auf (Nathwani 2022). Basierend auf der noch vorhandenen Menge der jeweiligen Gerinnungsfaktoren unterscheidet man verschiedene Schweregrade der Erkrankung (schwere Hämophilie: unter 1 %; mittelschwere Hämophilie: 1–5 %; milde Form der Hämophilie: 5–40 %). Bei der schweren und mittelschweren Hämophilie kommt es zu einer vermehrten Blutungsneigung vor allem in den Gelenken und der Muskulatur sowie zu Viszeralblutungen.³⁰ Hierbei kann es mit zunehmendem Alter zu Deformationen und Funktionsverlust der Gelenke kommen (Nathwani 2022). Um Spontanblutungen vorzubeugen, erhalten Patienten prophylaktisch Faktor-VIII- oder Faktor-IX-Konzentrate. Allerdings kann durch diese Maßnahme keine gleichmäßige Konzentration der Faktoren im Blut erreicht werden. Die Situation ist eine andere, wenn über einen gentherapeutischen Ansatz kontinuierlich Faktoren gebildet und aus der produzierenden Zelle ins Blut abgegeben werden. Da schon geringe Kon-

²⁶Siehe unter: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/erste-gentherapie-fuer-aadc-mangel-135158/> [14.05.2023].

²⁷Das Putamen ist eine Struktur, die in beiden Hälften des Großhirns vorkommt und u. a. wichtig für die Bewegungssteuerung ist.

²⁸Die Zulassung erster Gentherapien zur Behandlung der Hämophilie B wurde bereits 2018 im „Vierten Gentechnologiebericht“ für die nahe Zukunft angekündigt (Hucho et al. 2018: 213).

²⁹Aufgrund ihres häufigen Auftretens in Familien des europäischen Hochadels (vor allem der britischen Königs- und russischen Zarenfamilien) wurde die „Bluterkrankheit“ auch als „Krankheit der Könige“ bekannt.

³⁰Siehe unter: https://www.orpha.net/data/patho/Emg/de/Emergency_Haemophilie-dePro646.pdf [14.05.2023].

zentrationen ausreichen, um eine Verbesserung des Krankheitsbildes zu erreichen (5 %), wurde in den 1990er-Jahren damit begonnen, eine Gentherapie zur Behandlung der Hämophilie zu entwickeln. Hierbei wurden und werden AAV-Vektoren verwendet, die eine Präferenz für Hepatozyten, die parenchymalen Zellen der Leber, besitzen. Faktor IX wird natürlicherweise in Hepatozyten gebildet und eine Gensupplementationstherapie – vor allem mit der Padua-Variante des Gens³¹ – vermittelt sehr gute und stabile therapeutische Effekte. Im Gegensatz hierzu wird Faktor VIII natürlicherweise in den sinusoidalen Endothelzellen der Leber („liver sinusoidal endothelial cells“, LSEC) sowie den mikrovaskulären Endothelzellen produziert (Shahani et al. 2014). Faktor VIII bildet dabei einen Komplex mit dem Von-Willebrand-Faktor. Diese Komplexe werden in sog. Weibel-Palade-Körperchen in den Endothelzellen gespeichert und nach Abgabe als membranverankerte Komplexe bereitgestellt. Im Falle der Hepatozyten als „Produktionsstätte“ entfällt diese Interaktion. Gute therapeutische Effekte werden aber trotzdem erreicht. Allerdings wird diskutiert, ob sich die Effektivität der Therapie durch einen Wechsel hin zu LSEC als Zielzellen verbessern könnte. Es wird vermutet, dass sich ein solcher Wechsel auch positiv auf die Dauer des Therapieerfolges auswirken könnte.

Für die Behandlung sowohl der Hämophilie A als auch B werden die AAV-Vektoren intravenös appliziert. Hierbei galt es, einen AAV-Serotyp zu identifizieren, der – wie bereits erwähnt – Hepatozyten gut transduziert und gegen den in der Bevölkerung eine geringe Seroprävalenz³² vorliegt (Nathwani 2022). Vor allem für AAV2, aber auch für AAV1 weisen z. B. zwischen 60 % (Afrika) und 30 % (USA und Europa) der Bevölkerung neutralisierende Antikörper auf (Calcedo et al. 2009). Die Serokonversion³³ erfolgt häufig im Alter von 1 bis 3 Jahren (Calcedo et al. 2011). Da neutralisierende Antikörper die Vektoren vor allem bei intravenöser Gabe in ihrer Effektivität hemmen können, können nur Patienten, die seronegativ sind oder deren Titer unter dem jeweiligen empfohlenen Grenzwert liegt, eine AAV-vektorvermittelte Gentherapie erhalten. Aufgrund der deutlich geringeren Seroprävalenz (Bundesrepublik Deutschland: 28,1 % für AAV5 versus 48,3 % für AAV2) (Klamroth et al. 2022) werden AAV5-basierte Vektoren im Falle von Roctavian® und Hemgenix® verwendet.

Neben den zugelassenen AAV-vektorbasierten Gentherapien werden diverse weitere Ansätze in den – je nach Quelle – 136 bis 150 klinischen Studien getestet (Au et al. 2021; Kuzmin et al. 2021). Im Bereich der monogenen Erkrankungen liegt der Schwerpunkt auf Bluterkrankungen, Erkrankungen des Auges, lysosomalen Speicherkrankheiten sowie neuromuskulären Erkrankungen (Au et al. 2021; Kuzmin et al. 2021). Die meisten dieser Ansätze verfolgen – wie bisher – die Strategie der Gensupplementation. In der präklinischen Entwicklung finden

³¹Die Padua-Variante ist eine natürlich auftretende, zuerst in Padua beschriebene Genvariante mit 5 bis 10-mal höherer spezifischer Aktivität (Simioni et al. 2009).

³²Seroprävalenz beschreibt das Vorhandensein von neutralisierend wirkenden Antikörpern im Blutserum gegen z. B. Viren, damit eingeschlossen virale Vektoren.

³³Als Serokonversion wird das erstmalige Auftreten von Antikörpern bezeichnet, die nach einer Infektion, aber auch Impfung gegen spezifische Mikroorganismen oder Viren entstehen.

sich jedoch vermehrt Genomeditierungsstrategien (siehe Fehse et al., Kap. 7). Hierbei dienen die AAV-Vektoren häufig als Transfervehikel für die Reparaturvorlage (Dever et al. 2016; Ferrari et al. 2020). AAV-Vektoren werden aber auch zum Transport der Designernukleasen bzw. der vollständigen Geneditierungsmaschine verwendet, z. B. in den Geneditierungsansätzen für den Ornithin-Transcarbamylase-Mangel (Wang et al. 2020) oder die Muskeldystrophie Duchenne (Chen et al. 2022).

4.4 AAV-Vektoren 2.0

Die bisher zugelassenen AAV-vektorbasierten Gentherapien sowie die meisten der derzeitigen klinischen Studien verwenden AAV-Vektoren der ersten Generation. Hierbei werden natürlich vorkommende AAV-Serotypen „vektoriert“. Obwohl erfolgreich, beinhaltet diese Strategie einige Nachteile. So erfolgt – wie weiter oben bereits kurz angesprochen – häufig im Kindesalter eine Infektion mit AAV (als Viren), wodurch Antikörper gegen AAV ausgebildet werden. Dies schränkt zum einen die Auswahl an Serotypen ein, die für die Entwicklung einer Therapie verwendet werden können und hat zum anderen zur Konsequenz, dass Patienten, deren Antikörperkonzentration den für die Therapie festgelegten Schwellenwert überschreiten, eine zugelassene Therapie nicht erhalten sowie in eine klinische Studie nicht eingeschlossen werden können. Zudem verwenden alle natürlich vorkommenden AAV-Serotypen für die Infektion Rezeptoren, die auf verschiedenen Zelltypen vorkommen. Daher werden neben den eigentlichen Zielzellen der Therapie auch sog. Nichtzielzellen transduziert. Dies stellt i. d. R. kein sicherheitsrelevantes Problem dar, führt aber dazu, dass relativ hohe Vektormengen verabreicht werden müssen, um in den Zielzellen eine therapeutisch wirksame Dosis an Vektoren zu erreichen, da Vektoren in Nichtzielzellen „verloren“ gehen. Zudem werden bestimmte therapeutisch interessante Zelltypen, wie z. B. Endothelzellen, Fibroblasten oder Kardiomyozyten von AAV-Vektoren, die auf natürlich vorkommenden Serotypen beruhen, nur ineffizient transduziert, da entweder Rezeptoren auf der Zelloberfläche fehlen oder die Vektoren in der Zelle ineffizient prozessiert werden.

Aufgrund der Funktion des Kapsids als Ziel der Antikörpererkennung und als „Vermittler“ der Zellerkennung und -bindung sowie verschiedenster Interaktionen mit Bestandteilen der Zelle nach der Vektoraufnahme in die Zelle (siehe Abb. 4.1), fokussieren viele der Vektoroptimierungsprojekte („vector engineering“) auf das Kapsid („capsid engineering“, Kapsidmodifikation). Hierbei unterscheidet man zwischen genetischen und nicht genetischen Ansätzen des „capsid engineering“ (siehe Abb. 4.3). Bei den genetischen Ansätzen wird das *cap*-Gen verändert. Selbst durch geringe Veränderungen (z. B. den Austausch einzelner Aminosäuren) konnten beeindruckende Verbesserungen in der Effizienz erreicht werden. So führt der Austausch bestimmter Tyrosinreste zu Phenylalanin, von Serin oder Threonin zu Valin und von Lysin zu Glutaminsäure dazu, dass das Kapsid innerhalb der Zelle nicht für den Abbau durch das Proteasom markiert wird und dadurch effizienter seiner eigentlichen Aufgabe, nämlich dem Transfer des Vektor-

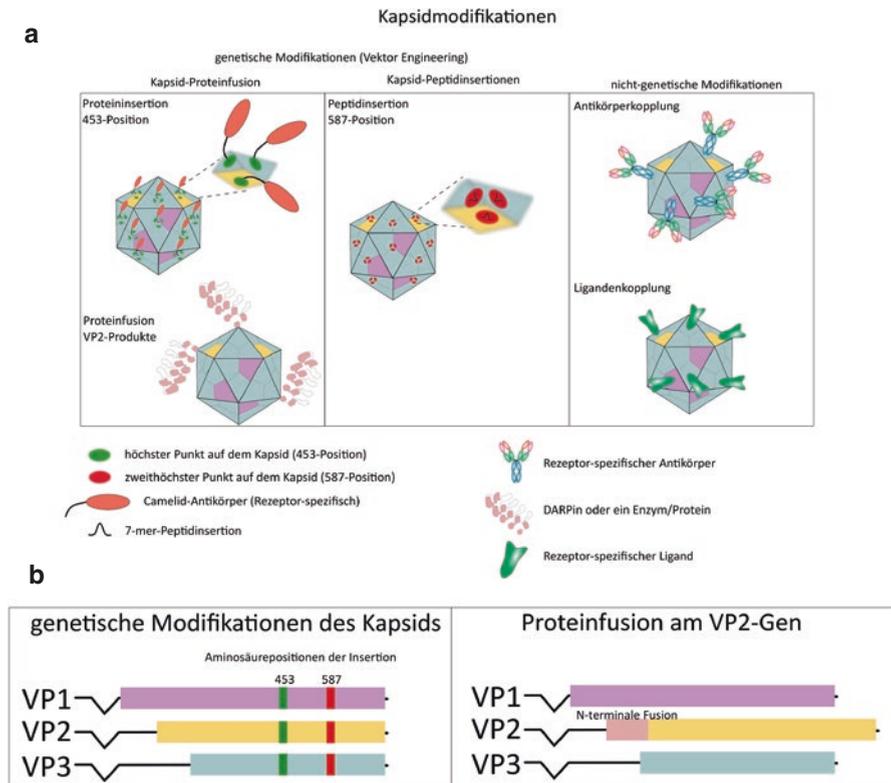


Abb. 4.3 Modifikationen des AAV-Kapsids zur Verbesserung der Spezifität des AAV-Vektors (a) Schematische Darstellung von Beispielen zur genetischen und nicht genetischen Modifikation des AAV-Kapsids (weitere Informationen siehe Abschn. 4.4). (b) Schematische Darstellung des *cap*-Gens mit Bezeichnung der Positionen, die für eine genetische Modifikation verwendet werden. Die Bezeichnung der Positionen in (a) und (b) bezieht sich auf AAV2

genoms in den Zellkern, nachkommen kann (Büning und Srivastava 2019). Interessanterweise wirkten sich diese Veränderungen auch positiv auf die Immunogenität aus, d. h. die Beladung des zellulären Haupthistokompatibilitäts(MHC)³⁴-Komplexes mit AAV-spezifischen Kapsidepitopen ist verringert (Büning und Srivastava 2019). Um den Tropismus der Vektoren zu verändern, werden bei den genetischen Ansätzen entweder kurze Peptide, die als Rezeptorliganden fungieren, in das *cap*-Gen eingefügt oder man fügt proteinbasierte Strukturen ein, die als Adaptoren eine Verbindung zwischen dem Kapsid und Molekülen auf der Zelloberfläche vermitteln (Büning und Srivastava 2019) (siehe Abb. 4.3a links sowie Abb. 4.3b rechts). Beispiele für Adaptoren sind Nanobodies (Eichhoff et al. 2019; Hamann et al. 2021) oder „Designed Ankyrin Repeat Proteins“ (DARPins) (Michels et al. 2021; Munch et al. 2013, 2015), die mit hoher Selektivität vor-

³⁴ „Major histocompatibility complex“ (MHC).

definierte Zelloberflächenstrukturen erkennen und binden. Um eine optimale Bindung an die Zielzelle zu erreichen, werden für die Insertion Positionen im Kapsid ausgewählt, die besonders exponiert auf der Kapsidoberfläche liegen, wie z. B. die Spitzen der Erhebungen, die sich an der 3-fach-Symmetrieachse des Kapsids befinden (Büning und Srivastava 2019) (siehe Abb. 4.3a links (Proteininsertion, 453-Position) sowie Abb. 4.3b links). Eine weitere Position, die sogar die Fusion von ganzen Proteinen erlaubt, ist der N-Terminus von VP2 (siehe Abb. 4.3a links (Proteinfusion, VP2-Produkte) sowie Abb. 4.3b rechts). Durch diese Modifikation lokalisiert der N-Terminus direkt nach Vektorproduktion bereits auf die Kapsidoberfläche (ohne Modifikation erfolgt die „Ausstülpung“ des N-Terminus von VP2 erst im Endosom, siehe Abschn. 4.1) (Munch et al. 2013, 2015). Bei der nicht genetischen Kapsidmodifikation werden Peptide oder Adaptoren, wie z. B. Antikörper, erst nach der Vektorproduktion auf das Kapsid aufgebracht. Dies kann durch Assoziation erfolgen (bisppezifische Antikörper oder Biotin-Streptavidin-vermittelt) (Büning und Srivastava 2019) oder durch die Ausbildung einer chemischen Bindung (Mével et al. 2020) (siehe Abb. 4.3a rechts).

Wird der natürliche Zelltropismus des Kapsids vor der Einbringung der Tropismus-verändernden Moleküle ausgeschaltet, so bestimmt ausschließlich die Wahl des Peptidliganden (Nanobody oder DARPin), welche Zielzellen transduziert werden. Kapsidmodifikationen können auch verwendet werden, um Zelltypen, die bisher nicht mit AAV-Vektoren transduziert werden konnten, da ihnen Rezeptoren für die natürlich vorkommenden AAVs fehlen, empfänglich für eine Transduktion zu machen (Büning und Srivastava 2019; Pupo et al. 2022).

Kennt man keine geeigneten Rezeptoren oder vermutet man, dass intrazelluläre Prozesse der AAV-Prozessierung nicht effizient erfolgen, können statt der oben beschriebenen „rational design“-basierten Ansätze Hochdurchsatzselektionen mit Kapsidbibliotheken erfolgen (Büning und Srivastava 2019; Grimm und Büning 2017; Pupo et al. 2022).

Um die Bibliotheken zu erstellen, werden in das *cap*-Gen zufällige Veränderungen eingefügt. Dies kann mithilfe einer „error prone“-PCR³⁵ erfolgen, durch die zufällige Neukombination von Fragmenten des *cap*-Gens unterschiedlicher Serotypen („capsid shuffling“) oder durch den Einbau von kurzen Peptiden mit Zufallssequenzen („AAV peptide display“, siehe Abb. 4.3a Mitte sowie Abb. 4.3b links). Diese Bibliotheken bestehen i. d. R. aus mehr als 1 Mio. verschiedenen Kapsidvarianten. Im Rahmen der Hochdurchsatzselektion, die ex vivo oder in vivo erfolgen kann, werden aus den Bibliotheken Varianten herausgefischt, die die gewünschten Eigenschaften aufweisen wie z. B. eine besonders selektive und/oder effiziente Transduktion der Zielzellen.

³⁵Hierbei handelt es sich um eine Methode, um „Fehler“ („errors“) in einen DNA-Abschnitt einzubringen. Hierfür wird die DNA (hier das *cap*-Gen) mithilfe einer Vervielfältigungstechnik (Polymerasekettenreaktion, PCR) milliardenfach kopiert. Bei der PCR wird eine Polymerase (kopiert die DNA) eingesetzt, die eine erhöhte Wahrscheinlichkeit aufweist, Fehler einzubauen („error prone“). Diese zufälligen Fehler können neue Kapsidsequenzen erzeugen, die verbesserte Eigenschaften zur ursprünglichen Kapsidsequenz aufweisen.

Ein weiterer Vorteil des „capsid engineering“ besteht darin, dass durch die Modifikation des Kapsids häufig auch Zielepitope des Immunsystems verändert werden, sodass viele dieser Vektoren eine geringere Sensitivität gegenüber Antikörpern, die gegen Erstgenerationsvektoren in der humanen Bevölkerung vorhanden sind, aufweisen. Besonders erfolgreich in dieser Richtung waren und sind die „capsid shuffling“-Ansätze.

Neben dem Kapsid ist auch das Vektorgenom ein Ziel intensiver Forschung. Hierbei werden u. a. Strategien entwickelt, um die geringe Codierungskapazität zu verbessern. Vielversprechende Ansätze in diesem Bereich sind die Verwendung von zwei oder mehreren AAV-Vektoren, die jeweils Teile des Vektorgenoms transferieren. Die Zusammenführung dieser „Teile“ erfolgt dann in der Zelle entweder auf der Ebene des Vektorgenoms, der mRNA oder des Proteins (Tornabene und Trapani 2020).

Literatur

- Aoun M et al (2021) Inherited retinal diseases due to rpe65 variants: from genetic diagnostic management to therapy. *Int J Mol Sci* 22:7207
- Atchison RW et al (1965) Adenovirus-associated defective virus particles. *Science* 149:754–756
- Au HKE et al (2021) Gene therapy advances: a meta-analysis of AAV usage in clinical settings. *Front Med (Lausanne)* 8:809118
- Büning H, Srivastava A (2019) Capsid modifications for targeting and improving the efficacy of AAV vectors. *Mol Ther Methods Clin Dev* 12:248–265
- Calabria A et al (2023) Intrathymic AAV delivery results in therapeutic site-specific integration at TCR loci in mice. *Blood* 141:2316–2329
- Calcedo R et al (2009) Worldwide epidemiology of neutralizing antibodies to adeno-associated viruses. *J Infect Dis* 199:381–390
- Calcedo R et al (2011) Adeno-associated virus antibody profiles in newborns, children, and adolescents. *Clin Vaccine Immunol* 18:1586–1588
- Chen G et al (2022) CRISPR-based therapeutic gene editing for Duchenne muscular dystrophy: advances, challenges and perspectives. *Cells* 11(19):2964
- Dalwadi DA et al (2021) AAV integration in human hepatocytes. *Mol Ther* 29(10):2898–2909
- Dever DP et al (2016) CRISPR/Cas9 beta-globin gene targeting in human haematopoietic stem cells. *Nature* 539:384–389
- Dudek AM et al (2020) GPR108 is a highly conserved AAV entry factor. *Mol Ther* 28:367–381
- Eichhoff AM et al (2019) Nanobody-enhanced targeting of AAV gene therapy vectors. *Mol Ther Methods Clin Dev* 15:211–220
- Ferrari S et al (2020) Efficient gene editing of human long-term hematopoietic stem cells validated by clonal tracking. *Nat Biotechnol* 38:1298–1308
- Gaudet D et al (2013) Efficacy and long-term safety of alipogene tiparvovec (AAV1-LPLS447X) gene therapy for lipoprotein lipase deficiency: an open-label trial. *Gene Ther* 20:361–369
- Graham FL et al (1977) Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5. *J Gen Virol* 36(1):59–74
- Grimm D, Büning H (2017) Small but increasingly mighty: latest advances in AAV vector research, design, and evolution. *Hum Gene Ther* 28:1075–1086
- Hacker UT et al (2020) Towards clinical implementation of adeno-associated virus (AAV) vectors for cancer gene therapy: current status and future perspectives. *Cancers (Basel)* 12(7):1889
- Hagedorn C et al (2017) S/MAR element facilitates episomal long-term persistence of adeno-associated virus vector genomes in proliferating cells. *Hum Gene Ther* 28:1169–1179

- Hamann MV et al (2021) Improved targeting of human CD4+ T cells by nanobody-modified AAV2 gene therapy vectors. *PLoS One* 16:e0261269
- Hastie E, Samulski RJ (2015) Adeno-associated virus at 50: a golden anniversary of discovery, research, and gene therapy success—a personal perspective. *Hum Gene Ther* 26:257–265
- Hucho F et al (Hrsg) (2018) *Vierter Gentechnologiebericht. Nomos, Baden-Baden*
- Issa SS et al (2023) Various AAV serotypes and their applications in gene therapy: an overview. *Cells* 12(5):785
- Kaepfel C et al (2013) A largely random AAV integration profile after LPLD gene therapy. *Nat Med* 19(7):889–892
- Keam SJ (2022) Eladocagene exuparvovec: first approval. *Drugs* 82(13):1427–1432
- Klamroth R et al (2022) Global seroprevalence of pre-existing immunity against AAV5 and other AAV Serotypes in people with hemophilia A. *Hum Gene Ther* 33:432–441
- Kotulska K et al (2021) Recombinant adeno-associated virus serotype 9 gene therapy in spinal muscular atrophy. *Front Neurol* 12:726468
- Kuzmin DA et al (2021) The clinical landscape for AAV gene therapies. *Nat Rev Drug Discov* 20:173–174
- Large EE, Chapman MS (2023) Adeno-associated virus receptor complexes and implications for adeno-associated virus immune neutralization. *Front Microbiol* 14:1116896
- Loring HS et al (2016) Development of rAAV2-CFTR: history of the first rAAV vector product to be used in humans. *Hum Gene Ther Methods* 27:49–58
- Mével M et al (2020) Chemical modification of the adeno-associated virus capsid to improve gene delivery. *Chem Sci* 11:1122–1131
- Michels A et al (2021) Lentiviral and adeno-associated vectors efficiently transduce mouse T lymphocytes when targeted to murine CD8. *Mol Ther Methods Clin Dev* 23:334–347
- Motyl AAL, Gillingwater TH (2022) Timing is everything: clinical evidence supports pre-symptomatic treatment for spinal muscular atrophy. *Cell Rep Med* 3:100725
- Muhuri M et al (2022) Durability of transgene expression after rAAV gene therapy. *Mol Ther* 30(4):1364–1380
- Mulcrone PL et al (2022) Adding recombinant AAVs to the cancer therapeutics mix. *Mol Ther Oncolytics* 27:73–88
- Munch RC et al (2013) Displaying high-affinity ligands on adeno-associated viral vectors enables tumor cell-specific and safe gene transfer. *Mol Ther* 21:109–118
- Munch RC et al (2015) Off-target-free gene delivery by affinity-purified receptor-targeted viral vectors. *Nat Commun* 6:6246
- Nathwani AC (2022) Gene therapy for hemophilia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2022:569–578
- Nowrouzi A et al (2012) Integration frequency and intermolecular recombination of rAAV vectors in non-human primate skeletal muscle and liver. *Mol Ther* 20(6):1177–1186
- Ogden PJ (2019) Comprehensive AAV capsid fitness landscape reveals a viral gene and enables machine-guided design. *Science* 366:1139–1143
- Opladen T et al (2021) Die intrazerebrale Gentherapie des Aromatischen-L-Aminosäure-Decarboxylase-Mangels mit Eladocagene exuparvovec. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 169:738–747
- Penaud-Budloo M et al (2018) Pharmacology of recombinant adeno-associated virus production. *Mol Ther Methods Clin Dev* 8:166–180
- Popa-Wagner R et al (2012) Impact of VP1-specific protein sequence motifs on adeno-associated virus type 2 intracellular trafficking and nuclear entry. *J Virol* 86:9163–9174
- Pupo A et al (2022) AAV vectors: the Rubik's cube of human gene therapy. *Mol Ther* 30:3515–3541
- Shahani T et al (2014) Human liver sinusoidal endothelial cells but not hepatocytes contain factor VIII. *J Thromb Haemost* 12:36–42
- Simioni P et al (2009) X-linked thrombophilia with a mutant factor IX (factor IX Padua). *N Engl J Med* 361(17):1671–1675

- Stone D et al (2021) CRISPR-Cas9 gene editing of hepatitis B virus in chronically infected humanized mice. *Mol Ther Methods Clin Dev* 20:258–275
- Tornabene P, Trapani I (2020) Can adeno-associated viral vectors deliver effectively large genes? *Hum Gene Ther* 31:47–56
- Wang L et al (2020) A mutation-independent CRISPR-Cas9-mediated gene targeting approach to treat a murine model of ornithine transcarbamylase deficiency. *Sci Adv* 6:eaax5701
- Zhang R et al (2019) Adeno-associated virus 2 bound to its cellular receptor AAVR. *Nat Microbiol* 4:675–682

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Sleeping Beauty: Ein „springendes Gen“ für Anwendungen in der Gentechnik

5

Wasifa Nurieva, Nicolás Sandoval-Villegas und Zoltán Ivics

5.1 Einleitung

Der Begriff „Transposition“ stammt aus dem Lateinischen („transponere“) und bedeutet „versetzen“. Entsprechend handelt es sich bei Transposons um DNA-Abschnitte mit der Fähigkeit, ihre Position im Genom zu verändern. Solche mobilen genetischen Elemente kommen in verschiedenen Organismen vor und können eine hocheffiziente Integration ihrer Gene in das Genom ihrer Wirtszellen vermitteln. Als experimentelle Werkzeuge werden von Transposons abgeleitete DNA-Transfervehikel auf regulierte und leistungsstarke Weise für die stabile Einführung unterschiedlicher DNA-Sequenzen, z. B. selektierbarer Markergene und therapeutischer Genkonstrukte, in die Genome von Zielzellen genutzt. Transposons eröffnen somit mehrere Möglichkeiten für Genommodifikationen in Menschen und bei Tieren, Bakterien und Pflanzen. Als Beispiel sei die Erzeugung transgener Zellen in Gewebekulturen für verschiedene Forschungsziele genannt. Dieser Ansatz kann auch für die Herstellung pluripotenter Stammzellen und die Erzeugung von Tieren mit vererbaren genetischen Veränderungen für die Grundlagen- sowie die angewandte Forschung und schließlich für die Therapie genetischer Erkrankungen beim Menschen eingesetzt werden. Da die Transposonkomponenten i. d. R. als nackte Nukleinsäuren (DNA und RNA) oder rekombinante Proteine vorliegen, ist ihre Verwendung einfach, sicher und z. B. im Vergleich mit viralen Vektoren wirtschaftlich konkurrenzfähig.

W. Nurieva · N. Sandoval-Villegas · Z. Ivics (✉)
Abteilung Hämatologie, Gen- und Zelltherapie, Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Deutschland
e-mail: Zoltan.Ivics@pei.de

In diesem Kapitel werden die Mechanismen beschrieben, die an den Transpositionsreaktionen eines der derzeit am weitesten verbreiteten Transposonsysteme, *Sleeping Beauty*,¹ beteiligt und für ihre experimentelle Verwendung relevant sind. Darüber hinaus werden die wichtigsten Anwendungsbereiche dieser Technologie in der Gentechnik kurz beschrieben (detailliert beschrieben in Sandoval-Villegas et al. 2021).

5.2 Mechanismen der Transposition und wie sie für den Einbau von Genen in Genome angepasst werden können

Einer der bekanntesten Mechanismen der Transposonbewegung ist die „Cut-and-Paste“-Transposition, bei der ein Enzym (Transposase) die Herauslösung des DNA-Elements aus seinem Spenderort und seine Reintegration in einen neuen chromosomalen Ort vermittelt (siehe Abb. 5.1).

Die Transposase benötigt Erkennungsmuster in der DNA, um mit dieser eine Bindung einzugehen. Bei diesen Erkennungsmustern handelt es sich um bestimmte Wiederholungen von Basen, die sich an beiden Enden des herauszuschneidenden DNA-Abschnitts befinden und somit die Grenzen des DNA-Abschnitts (Transposons) definieren; sie werden „terminal inverted repeats“ (TIR) genannt. Nachdem der DNA-Abschnitt herausgeschnitten wurde, wird er zufällig an einer anderen Stelle im Genom wieder eingefügt.

Während der Transposition (i) interagiert die Transposase mit ihren Bindungsstellen in den TIRs, (ii) fördert die Bildung eines synaptischen Komplexes, bei dem die TIRs durch Transposasemoleküle zusammengehalten werden, (iii) katalysiert das Herausschneiden (Exzision) des Elements aus seiner Donor-Stelle und (iv) integriert das herausgeschnittene Transposon in eine neue Stelle der Ziel-DNA (Izsvák et al. 2004).

Der wichtigste Weg zur Reparatur von Transposonexzisionsstellen ist die nicht homologe Endverbindung (NHEJ),² die Transposon-„Fußabdrücke“ erzeugt, die sich aus den transposonspezifischen Überhängen ergeben, die bei der Transposonexzision entstehen. Zusätzlich zu den Fußabdrücken, die durch die anerkannte Transposonexzision bestimmt werden, tragen die durch den fehleranfälligen NHEJ-Reparaturprozess eingeführten Indels (Insertionen und Deletionen) zur Sequenzheterogenität an den Transposonexzisionsstellen bei (Izsvák et al. 2004). Der zweite Schritt der Transpositionsreaktion ist die Übertragung der exponierten Transposonspitze auf das Ziel-DNA-Molekül. Ein koordinierter Angriff an versetzten Positionen in den beiden Strängen der Ziel-DNA führt zu charakteristischen Zielstellenduplikationen (TSDs), deren Sequenz die spezifischen Zielstellenpräferenzen jeder Transposonfamilie widerspiegelt. Auf der primären DNA-Sequenzebene werden die Präferenzen der Integrationsstellen durch die

¹*Sleeping Beauty* ist der englische Name von Dornröschen.

²„Non-homologous end joining“.

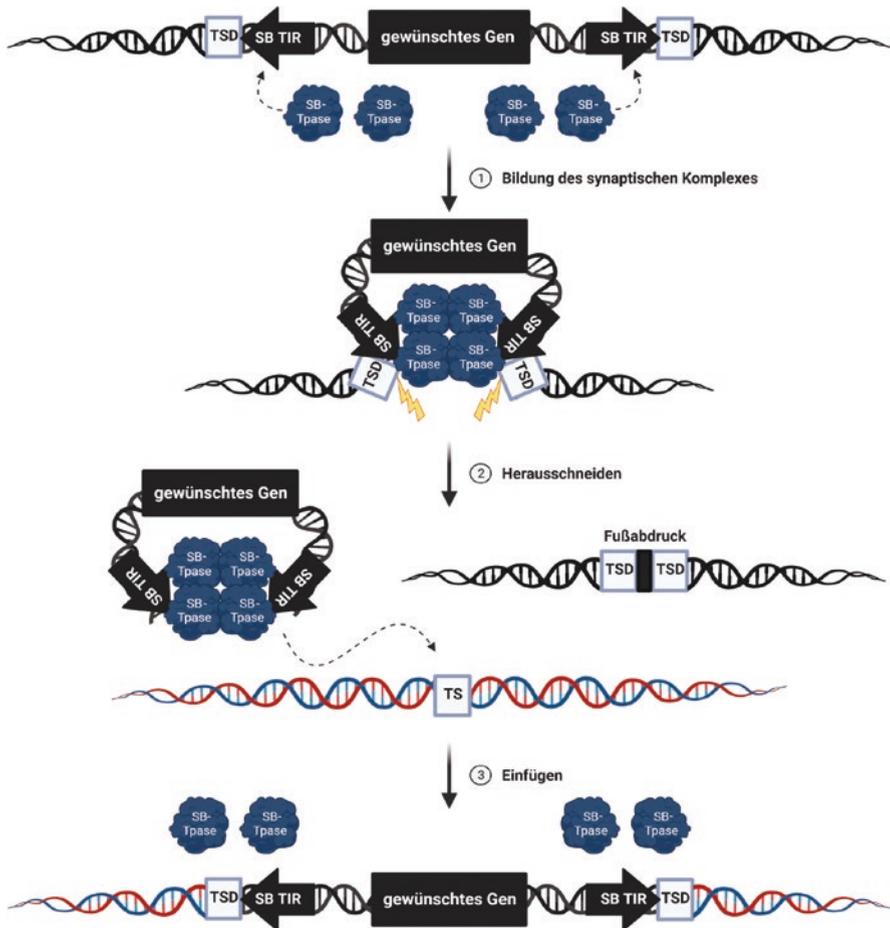


Abb. 5.1 Schematischer Überblick über die transposasevermittelte Cut-and-Paste-Transposition. Ein gewünschtes Gen (schwarzer Balken) wird durch Sleeping-Beauty-Transposase (SB-Tpase)-Moleküle (graue amorphe Form) zu einem genomischen Locus (blau-rote DNA-Stränge) mobilisiert. Die Transposase bindet an die terminalen invertierten Wiederholungen (TIRs, graue Pfeile), induziert Doppelstrangbrüche (gekennzeichnet durch gelbe Blitze), schneidet das mobile Element aus der Spender-DNA heraus und hinterlässt einen Fußabdruck. Der Transposon-Transposase-Komplex findet eine geeignete Zielstelle (TS: „target site“) und führt die Integration durch, wodurch eine Zielstellenverdopplung (TSD: „target site duplication“) entsteht. Die Abbildung wurde erstellt mit [BioRender.com](https://www.biorender.com)

Protein-DNA-Wechselwirkungen der Transposaseproteine bestimmt. Auf der genomischen Ebene ist die Verteilung der Insertionsstellen der meisten Transposons nicht zufällig, sondern wird in erster Linie durch Protein-Protein-Wechselwirkungen zwischen der Transposase und an Chromatin gebundenen Wirtsfaktoren definiert. In der Natur kommen DNA-Transposons als einzelne, mobile Einheiten vor, bei denen sich die Transposase-Codierungssequenzen zwischen

den TIRs befinden. Nicht autonome Transposons, die keine funktionelle Transposase exprimieren können, können jedoch durch Transposasen mobilisiert werden, die von verschiedenen Elementen desselben Genoms exprimiert werden.

Darauf aufbauend ist es unter Laborbedingungen möglich, Transposons als Genträgersysteme zu verwenden, bei denen praktisch jede DNA-Sequenz von Interesse zwischen den Transposon-TIRs platziert und durch Zugabe der Transposase (siehe Abb. 5.1) mobilisiert werden kann. Die Transposase wird dabei entweder codiert durch eine Nukleinsäure (ein Plasmid³ oder eine synthetische mRNA) oder als in Bakterien hergestelltes rekombinantes Protein zugegeben. Ihre Flexibilität macht Transposons zu natürlichen und leicht kontrollierbaren DNA-Transportvehikeln, die als Werkzeuge für vielseitige Anwendungen eingesetzt werden können, die von der somatischen und Keimbahntransgenese bis zur funktionellen Genomik und Gentherapie reichen.

5.3 Das Sleeping-Beauty-Transposonsystem

Sleeping Beauty (SB) ist ein synthetisches Element, bestehend aus inaktiven Kopien eines DNA-Transposons aus Fischen, dessen Blütezeit etwa 10 Mio. Jahre zurückliegt (Ivics et al. 2014a, b, c). Bei inaktiven Kopien handelt es sich um Bereiche auf der DNA, die nicht für die Herstellung von Proteinen genutzt werden und daher quasi „schlafen“. SB wurde 1997 von Ivics et al. aus ihrem Schlaf geweckt (Ivics et al. 1997), indem eine stark konservierte DNA-Sequenz aus acht verschiedenen Fischarten durch Eliminierung der inaktivierenden Mutationen rekonstruiert wurde. Nach der Rekonstruktion wurde festgestellt, dass SB auch in der Lage ist, die Transposition in Zellen von Säugetieren, einschließlich Mäusen und Menschen, zu vermitteln (Izsvák et al. 2000). Damit bot sich SB sehr schnell als praktisches Werkzeug für die Gentechnik mit Anwendungen von der funktionellen Genomik (Kawakami et al. 2017) bis hin zur Gen- und Zelltherapie (Amberger und Ivics 2020) an.

Das SB-Transposon ist ein genetisches Element, das von zwei TIRs (oben beschrieben) von ca. 230 Basenpaaren flankiert wird. Diese Regionen stehen im Zentrum der Interaktionen mit der SB-Transposase (Enzym) und sind daher entscheidend für die Transposition.

Die SB-Transposase orchestriert die Transpositionsreaktion in einer besonders organisierten Weise (siehe Abb. 5.1). Es binden jeweils zwei Transposaseenzyme an beiden Seiten des DNA-Abschnitts (gewünschtes Gen) und führen zu einer strukturellen Änderung der DNA, die einer Ausstülpung der DNA gleicht und synaptischer Komplex genannt wird. Erst nach der Bildung des gesamten synaptischen Komplexes führen die Transposasen nun eine enzymatische Reaktion durch und schneiden den von den TIRs umschlossenen DNA-Abschnitt aus dem Genom oder auch dem benutzten Vektor heraus.

³ Plasmide sind ursprünglich aus Bakterien stammende relativ kleine ringförmige DNA-Moleküle. Ihre Länge beträgt mehrere Tausend Nukleotide.

Im Gegensatz zu anderen integrierenden Gentransfervektoren zeigt SB ein nahezu zufälliges Integrationsprofil in Säugetiergenome (Moldt et al. 2011; Gogol-Döring et al. 2016; Holstein et al. 2018). Diese Eigenschaft ist im Kontext der klinischen Genthherapie von besonderem Interesse, da sie das Risiko verringert, dass sich das Transposon in wichtigen Bereichen des Zellgenoms einbaut und dadurch zu unerwünschten Mutationen führt.⁴ Zudem gibt es im menschlichen Genom keine bekannten Proteine, die von SB abgeleitet sind und die genügend strukturelle Ähnlichkeiten aufweisen, um mit den charakteristischen Wiederholungen (TIRs) zu interagieren und das transponierbare Element SB zu mobilisieren. Insgesamt weist das SB-Transposonsystem ein besonders günstiges Sicherheitsprofil auf und gilt als potenziell sicherer als andere verfügbare integrierende Vektoren für den therapeutischen Gentransfer.

Als Werkzeuge für einen effizienten Gentransfer sind Transposons besonders nützlich bei der Erforschung von Krankheitsmodellen und bei der Entwicklung von Therapien für genetisch bedingte Erkrankungen. Um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass das Transposon im Zielgenom eingefügt wird und zu einer effizienten und präzisen Genommodifikation führt, war es notwendig, die identifizierten Transposasen zu optimieren. Hierfür wurden z. B. hyperaktive SB-Transposasen entwickelt. So gelang es durch mehrfache Modifizierungen (Mutationen) der SB-Transposase, basierend auf genetischen Vergleichen mit verwandten Transposasen, Hochdurchsatzscans und Optimierungen, ein neues SB-Transposon zu generieren. Anhand seiner ca. 100-fach höheren Transpositionsaktivität (verglichen mit Transposons der ersten Generation) erhielt es den Namen SB100X (Mátés et al. 2009; Voigt et al. 2016). Zudem wurden mehrere neue Mutanten der SB-Transposase entwickelt, die ein sichereres Integrationsprofil besitzen, indem sie die Integration der gewünschten Gene außerhalb codierender Bereiche (Exone) und regulatorischer Elemente im menschlichen Genom vermitteln und somit eine erhöhte Sicherheit und damit Nützlichkeit dieser SB-Varianten bei genterapeutischen Anwendungen ermöglichen (Miskey et al. 2022).

SB unterstützt ein breites Spektrum an gentechnischen Anwendungen/Methoden (siehe Abb. 5.2), einschließlich der Erzeugung transgener Zelllinien, induzierter pluripotenter Stammzellen-(iPSC)-Reprogrammierung (Grabundzija et al. 2013; Kues et al. 2013; Talluri et al. 2015; Sebe und Ivics 2016; Molina-Estevéz et al. 2013), phänotypgesteuerter Insertionsmutagenese-Screens im Bereich der Krebsbiologie (Übersicht in Kawakami et al. 2017; Copeland und Jenkins 2010; DeNicola et al. 2015), Keimbahngentransfer in Versuchstieren (Ivics et al. 2014a, b, c; Alessio et al. 2016; Garrels et al. 2011; Katter et al. 2013) und somatischer Genthherapie sowohl ex vivo als auch in vivo (ausführlich in Amberger und Ivics 2020; Mátés et al. 2009; Ivics et al. 2009; Narayanavari et al. 2017; Hackett et al. 2010; Boehme et al. 2015; Hudecek und Ivics 2018; Hudecek et al. 2017; Di Matteo et al. 2012), die in den folgenden Abschnitten dieses Kapitels erörtert werden.

⁴Sog. Insertionsmutagenese (siehe u. a. Morgan et al., Kap. 3).

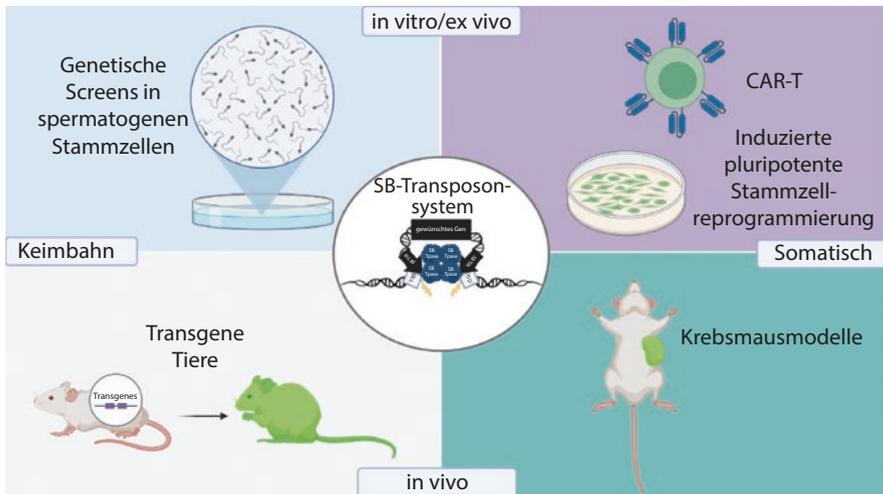


Abb. 5.2 Beispiele für Anwendungen des Sleeping-Beauty-Transposonsystems

Um das SB-System in die zu behandelnde Zelle zu bringen, gibt es mehrere Herangehensweisen, so wird z. B. ein Zwei-Plasmid-Konstrukt verwendet, in dem ein Plasmid die gewünschte DNA, flankiert von den entsprechenden TIRs, und das andere Plasmid die Transposase beinhaltet. Andere Möglichkeiten umfassen das direkte Einbringen der Transposase als mRNA oder Protein in die Zelle.

Dennoch kann das Vorhandensein von fremder DNA (Paludan und Bowie 2013) in der Zelle eine Immunreaktion auslösen und die Effizienz und Sicherheit einer Genom-„Engineering“-Strategie beeinträchtigen. Nicht zuletzt birgt die Übertragung als DNA auch das Risiko einer spontanen genomischen Integration der für die Transposase codierenden Sequenz (Wang et al. 2004), die zu einer konstanten Expression der Transposase führen könnte und dadurch zur dauerhaften Versetzung der transposablen Elemente und zur Mutagenese endogener Gene durch genomweite Fußabdrücke (Liang et al. 2009). Da Nukleinsäuren nicht die intrinsische Fähigkeit besitzen, in die Zielzellen einzudringen, müssen dafür spezielle (Transfektions-)Verfahren benutzt werden. Solche Verfahren sind jedoch unkompliziert – es existieren gut etablierte Protokolle. In klinisch relevanten Zelltypen werden die Zellen von Patienten oder Spendern entnommen und dem Prozess der Nukleofektion (eine Art der Elektroporation) unterzogen, bei dem DNA in die Zellen eingeführt wird. Dies wird oft in der Gentechnik genutzt, um genetisches Material in eine Zielzelle zu transportieren. Anschließend werden die Zellen ex vivo expandiert und einer Qualitätskontrolle unterzogen, bevor sie dem Patienten wieder zurück infundiert werden (Hudecek et al. 2017; Hudecek und Ivics 2018). Solche Studien laufen bereits (Prommersberger et al. 2021). Im Gegensatz dazu erfüllt derzeit kein Protokoll für die In-vivo-Verabreichung von Transposonsystemen die für die Anwendung beim Menschen erforderlichen Standards hinsichtlich Sicherheit und Effizienz. Alternative Verabreichungsmethoden neben der bisher bevorzugten Ex-vivo-Modifikation werden jedoch aktiv untersucht.

5.4 Anwendungen in der Grundlagenforschung

5.4.1 Insertions-Mutagenese-Screens

Ein Insertions-Mutagenese-Screen ist eine molekularbiologische Methode, die es ermöglicht, Gene zu identifizieren, die für bestimmte biologische Prozesse unerlässlich sind. Dieser Ansatz basiert auf der Einführung zufälliger Mutationen in eine Population von Zellen und der nachfolgenden Selektion auf bestimmte Eigenschaften (Phänotypen), die sich auf Mutationen in definierten Genen zurückführen lassen. Diese Methode kann z. B. verwendet werden, um Gene zu finden, die essenzielle Rollen für die Entwicklung von Organismen, bei Krankheiten oder anderen biologischen Prozessen spielen (Kawakami et al. 2017; Copeland und Jenkins 2010; DeNicola et al. 2015). Aufgrund ihrer genomweiten Insertionsmuster sind DNA-Transposons von Natur aus mutagene Elemente, die die Funktion anderer DNA-Merkmale im gesamten Genom beeinflussen können. Diese Eigenschaft hat sie in die Lage versetzt, das Genom ihrer Wirte über Millionen von Jahren der Evolution zu beeinflussen, und jetzt können wir sie nutzen, um die verborgenen Merkmale des Genoms aufzudecken.

Da Hochdurchsatztechnologien zunehmend zugänglich sind und Entdeckungen mehr Daten und Aufwand erfordern, ist davon auszugehen, dass transposonbasierte Mutagenese-Screens bei der Enträtselung der verbleibenden Geheimnisse der genomischen DNA eine wichtige Rolle spielen werden.

5.4.2 Transgene Tiere

Transgene Tiere sind eine schnell wachsende Komponente der Biotechnologie mit wertvollen Anwendungen in der biologischen und medizinischen Forschung, der Landwirtschaft und der pharmazeutischen Produktion. Die einfachste und am weitesten verbreitete Methode zur Erzeugung von transgenen Tieren ist die pronukleare Mikroinjektion (Gordon et al. 1980), ein Verfahren, bei dem DNA direkt in die Eizellen befruchteter Tiere injiziert wird, was zu einer dauerhaften Einbindung der eingeführten Sequenz in das Genom und damit schließlich in jede Zelle des Tieres, das sich aus der injizierten Zygote entwickelt, führt. Der Prozess ist jedoch höchst unvorhersehbar, da er auf dem zufälligen Einbau der mikroinjizierten DNA beruht.

Darüber hinaus kann die nichthomologe Rekombination schwere chromosomale Umlagerungen verursachen, die Deletionen, Duplikationen und Translokationen umfassen (Covarrubias et al. 1986; Kohrman et al. 1995; Wilkie und Palmiter 1987), die mit erheblichen nachteiligen Auswirkungen auf das veränderte Tier einhergehen können. Transposonsysteme haben sich als wertvolle Lösung für diesen Engpass erwiesen, indem sie den genomischen Einbau von präzisen monomeren Transgeneinheiten durch Transposition von einem Spenderplasmid in das Genom der Eizellen ermöglichen. Um die Risiken zu umgehen, die mit dem Einbau des Transposasegens und der potenziell resultierenden permanenten Transposaseexpression und

Transgenremobilisierung verbunden wären, wurde die Transposase in den vorherigen Versuchen als mRNA in die Zygote eingebracht, obwohl die Verwendung von rekombinantem Protein grundsätzlich auch möglich ist.

Zu transgenen Tieren, die mit dieser Methode erzeugt wurden, gehören Zebrafische (Suster et al. 2009; Shen et al. 2018; Davidson et al. 2003), Mäuse (Ding et al. 2005; Dupuy et al. 2002), Ratten (Ivics et al. 2014c; Sumiyama et al. 2010), Kaninchen (Ivics et al. 2014b), Schweine (Ivics et al. 2014a) und Rinder (Li et al. 2016).

5.4.3 iPSC-Reprogrammierung

Die iPSC-Technologie (induzierte pluripotente Stammzellen) zielt darauf ab, einen unbegrenzten Vorrat an Zellen für neuartige zellbasierte Therapien bisher unheilbarer Krankheiten bereitzustellen (Zakrzewski et al. 2019). Neben ihrer direkten Verwendung für zelluläre Therapien bieten iPSCs elegante Plattformen für Screenings, die Herstellung von Organoiden (siehe Bartfeld, Kap. 12) und die Modellierung von Krankheiten. Durch Entnahme einer kleinen Gewebeprobe des Patienten werden körpereigene Zellen zu iPSCs mit unbegrenzter Teilungsfähigkeit umprogrammiert. Im Rahmen einer Gentherapie (d. h., wenn die Zellen von einem Patienten mit einem krankheitsverursachenden Gendefekt stammen) kann auch eine Genkorrektur in den iPSCs durchgeführt und die Differenzierung in die gewünschten Vorläuferzellen gesteuert werden, mit dem Endziel, die Zellen wieder in den Patienten zu transplantieren. Aufgrund ihrer effizienten Genübertragung sind die SB-Transposonsysteme attraktive Werkzeuge für die Reprogrammierung somatischer Zellen.

SB ermöglicht eine sichere und effiziente Reprogrammierung von somatischen Zellen in iPSCs durch ihre definierten Vorteile wie ihre große Ladekapazität für zu übertragende Gene von bis zu 100 kb (Rostovskaya et al. 2012). Dies ist nützlich für die Mobilisierung von großen und komplexen Kassetten mit den sog. Pluripotenzfaktoren, nämlich Oct4, Klf4, Sox2, cMyc (OKSM), Nanog und Lin28 (OKSMNL) (Kumar et al. 2020). Darüber hinaus ermöglicht die mit der Cut-and-Paste-Transposition verbundene Exzisionsreaktion die Entfernung der Reprogrammierungskassetten aus dem Genom, sobald die Reprogrammierung abgeschlossen ist. In diesem Zusammenhang haben exzisionsfähige, aber integrationsdefiziente SB-Transposasemutanten (Kesselring et al. 2020) einen zusätzlichen Vorteil bei der Reprogrammierung von Stammzellen.

5.5 Präklinische Anwendungen

SB, wie es in diesem Kapitel beschrieben wurde, hat ein vielversprechendes Potenzial auf dem Gebiet der Gentherapie, da es effizient, sicher und relativ einfach Transgene in ein breites Spektrum klinisch relevanter Zelltypen einbringen kann. SB-Transposonsysteme wurden bereits in zahlreichen präklinischen Studien zur Behandlung seltener genetischer Erkrankungen erfolgreich getestet, darunter Tyrosinämie und Diabetes Typ I, familiäre Hypercholesterinämie, heredi-

täre Hyperbilirubinämien, Mukoviszidose, Mukopolysaccharidose, Hämophilie A und B, Sichelzellkrankheit, Huntington-Krankheit Epidermolysis bullosa, Duchenne-Muskeldystrophie (DMD) und Limb-Girdle-Muskeldystrophie (LGMD) (Amberger und Ivics 2020; Tipanee et al. 2017; Itoh et al. 2020; Neumeyer et al. 2019; Iyer et al. 2018; Chen et al. 2005). Bei diesen Krankheiten besteht die Behandlung i. d. R. aus der einfachen Addition einer korrekten Kopie des defekten Gens. Aufgrund ihres Funktionsmechanismus vermitteln Transposons eine langfristige Wirksamkeit der Behandlung und können somit einen Heilungserfolg potenziell nach einer einzigen Dosis gewährleisten. Transposonsysteme haben auch präklinische Erfolge bei der Behandlung komplexer Krankheiten ermöglicht, die durch eine Kombination aus genetischen und umweltbedingten Faktoren verursacht werden. Derzeit konzentrieren sich präklinische Anwendungen hauptsächlich auf indirekte Krebstherapien durch adoptive Immuntherapie. Die Entdeckung, dass synthetische sog. chimäre Antigenrezeptoren (siehe Blache et al., Kap. 8) in T-Zellen eingeschleust werden können und diese T-Zellen mit einer antikörperähnlichen Spezifität zu vorselektierten Zielen führen können (Gross et al. 1989), erwies sich als Durchbruch in der Krebstherapie, da sie bösartige Zellen auf der Grundlage von tumorassoziierten Oberflächenmarkern angreifen (Feins et al. 2019).

Transposonsysteme stellen eine für die praktische Anwendung sehr interessante Alternative zu den bisher für den Gentransfer in T-Lymphozyten genutzten retroviralen Vektorsystemen (siehe Morgan et al., Kap. 3, und Blache et al., Kap. 8) dar und wurden daher in der präklinischen CAR-T-Zelltherapie kontinuierlich getestet. Pionierarbeit wurde hier mit SB geleistet, das sich als effizientes Instrument für den Transfer der zuvor bereits gut charakterisierten CD19-spezifischen CARs erwies (Übersicht in Amberger und Ivics 2020; Magnani et al. 2020a). Mit SB hergestellte CD19-CAR-T-Zellen vermittelten eine Unterdrückung der Progression von B-Zell-Lymphomen sowohl *in vitro* als auch *in vivo*. Neuere Arbeiten umfassen die Entwicklung von CAR-T-Zellen für alternative Ziele wie den Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktorrezeptor (hGMR oder CD116) für hämatologische Malignome (Morokawa et al. 2020), den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR) als Ziel für das nicht kleinzellige Lungenkarzinom (Li et al. 2018), Glypican-3 und EGFRvIII für das hepatozelluläre Karzinom (Wang et al. 2020; Ma et al. 2020) und membranständiges Mesothelin (MSLN) als Epitop-Targeting gegen MSLN-positive solide Tumoren (Zhang et al. 2019).

5.6 Klinische Anwendungen

Die unkomplizierte Herstellung der Transposons, vor allem aber die ermutigenden Ergebnisse der präklinischen Studien waren die Grundlage für eine schnelle Translation transposonbasierter, nichtviraler Vektoren in die Klinik. Tatsächlich wurde schon im Jahr 2011 die erste SB-basierte CAR-T-Zellstudie gestartet, womit die Anwendung eines Transposonsystems am Menschen in die klinische Phase eintrat. Es handelte sich auch hier um ein Transposonsystems zur Generierung CD19-

spezifischer CAR-T-Zellen zur Behandlung der minimalen Resterkrankung von Patienten mit fortgeschrittenem Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) und akuter lymphatischer Leukämie (ALL) nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSCT) eingesetzt wurden (Kebriaei et al. 2016). Die Studie ergab ein 30 Monate progressionsfreies Überleben von 83 % bei Patienten nach autologer HSCT; nach allogener HSCT betrug das 12 Monate progressionsfreie Überleben 53 %. Die korrespondierenden Gesamtüberlebensraten betragen 100 % in der autologen und 63 % in der allogenen HSCT-Gruppe.

In der neuen klinischen CARAMBA-Studie (Phase-I/IIA; EudraCT: 2019-001264-30) werden die Machbarkeit, Sicherheit und Anti-Myelom-Wirksamkeit autologer CAR-T-Zellen untersucht. CARAMBA ist eine der ersten klinischen Studien in Europa, die auf der SB-Technologie zur Herstellung von CAR-T-Zellen basiert. Zugleich ist sie die erste klinische Studie weltweit, bei der die fortschrittliche SB-Technologie (hyperaktive SB100X-Transposase, codiert als synthetische mRNA, die in Verbindung mit einem CAR-Transposon geliefert wird) zum Einsatz kommt (Prommersberger et al. 2021).

Mithilfe der einfachen und effizienten SB-Technologie wird derzeit die Behandlung von Patienten mit Glioblastom, nicht kleinzelligem Lungenkrebs, Brustkrebs, Magen-Darm-Krebs und Eierstockkrebs untersucht.⁵ Eine wirklich personalisierte T-Zelltherapie, d. h. ein Produkt pro Patient, erfordert mehr denn je schnelle und kostengünstige Herstellungsprozesse. Eine Anforderung, die das SB-Transposonsystem im Gegensatz zu viralen Vektoren erfüllen kann (Deniger et al. 2016). Dies konnte zuletzt auch in einer Studie bei Patienten mit akuter B-Zell-lymphoblastischer Leukämie (B-ALL) gezeigt werden, die schnell nach allogener HSCT rezidiviert waren. Mithilfe des SB-Transposonsystems gelang es, sehr schnell CAR-T-Zellen vom Spender herzustellen. Die CAR-Immuntherapie führte bei mehreren dieser kaum noch zu behandelnden Patienten zu einer kompletten und andauernden Remission ohne schwere behandlungsassoziierte Toxizitäten (Magnani et al. 2020a).

Ein weiteres Transposonsystem, das mit Erfolg für die Veränderung menschlicher Zellen eingesetzt wurde, ist das PiggyBac(PB)-Transposon. Viele der oben beschriebenen Vorteile des SB-Systems sind auch auf PB anwendbar. PB weist jedoch ein Retrovirus-ähnliches genomweites Integrationsprofil auf (einschließlich einer Anreicherung von Insertionen an Transkriptionsstartstellen von Genen), was Sicherheitsbedenken aufwirft (Gogol-Döring et al. 2016). Leider kam es in einer klinischen Studie kürzlich zu unerwarteten schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen. Nach der Infusion von CAR-T-Zellen, die mit der PB-Technologie hergestellt wurden, entwickelten zwei Patienten ein T-Zell-Lymphom, das bei einem der Patienten zum Tod führte (Bishop et al. 2021). Obwohl die molekularen Vorgänge, die zu diesen unerwünschten Ereignissen führten, derzeit nicht bekannt sind, soll die potenzielle onkogene Aktivität des PB-Systems genau untersucht werden.

Neben der Krebstherapie ist SB das erste Transposonsystem, das den Sprung als Werkzeug in andere gentherapeutische Anwendungen geschafft hat. Bei der Alzheimer-Krankheit ist die Versorgung von Neuronen mit dem

⁵ Siehe NCT04102436: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04102436> [02.05.2023].

Nervenwachstumsfaktor (NGF) gestört und führt zu deren Degeneration (Cuello et al. 2010), was mit dem kognitiven Abbau der betroffenen Patienten korreliert. SB wurde verwendet, um Zellen zu verändern, sodass sie nach der Implantation direkt in das Gehirn NGF absondern (Eyjolfsson et al. 2016).

5.7 Schlussfolgerungen und Ausblick

Transposonbasierte Technologien haben ein enormes Potenzial zur Entwicklung leistungsfähiger genomischer Werkzeuge mit der Vision, eine Brücke zwischen Physiologie und Genetik zu schlagen und sichere und kostengünstige Protokolle für den klinischen Gentransfer zu entwickeln.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die attraktiven Merkmale, die die Transposonsysteme auszeichnen, Voraussetzungen dafür geschaffen haben, sie in zahlreichen Bereichen der Grundlagenforschung und präklinischen Studien bis hin zu klinischen Studien einzusetzen (siehe Abb. 5.2).

Literatur

- Alessio AP et al (2016) Establishment of cell-based transposon-mediated transgenesis in cattle. *Theriogenology* 85:1297–1311.e2
- Amberger M, Ivics Z (2020) Latest advances for the Sleeping Beauty transposon system: 23 years of insomnia but prettier than ever: refinement and recent innovations of the Sleeping Beauty transposon system enabling novel, nonviral genetic engineering applications. *Bioessays* 42:e2000136
- Bishop DC et al (2021) Development of CAR T-cell lymphoma in two of ten patients effectively treated with PiggyBac modified CD19 CAR T-cells. *Blood* 138(16):1504–1509
- Boehme P et al (2015) The Sleeping Beauty transposon vector system for treatment of rare genetic diseases: an unrealized hope? *Curr Gene Ther* 15:255–265
- Chen ZJ et al (2005) Sleeping Beauty-mediated down-regulation of huntingtin expression by RNA interference. *Biochem Biophys Res Commun* 329:646–652
- Copeland NG, Jenkins NA (2010) Harnessing transposons for cancer gene discovery. *Nat Rev Cancer* 10:696–706
- Covarrubias L et al (1986) Early postimplantation embryo lethality due to DNA rearrangements in a transgenic mouse strain. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:6020–6024
- Cuello AC et al (2010) Cholinergic involvement in Alzheimer's disease. A link with NGF maturation and degradation. *J Mol Neurosci* 40:230–235
- Davidson AE et al (2003) Efficient gene delivery and gene expression in zebrafish using the Sleeping Beauty transposon. *Dev Biol* 263:191–202
- DeNicola GM et al (2015) The utility of transposon mutagenesis for cancer studies in the era of genome editing. *Genome Biol* 16:229
- Deniger DC et al (2016) Stable, nonviral expression of mutated tumor neoantigen-specific T-cell receptors using the Sleeping Beauty transposon/transposase system. *Mol Ther* 24:1078–1089
- Di Matteo M et al (2012) Recent developments in transposon-mediated gene therapy. *Expert Opin Biol Ther* 12:841–858
- Ding S et al (2005) Efficient transposition of the PiggyBac (PB) transposon in mammalian cells and mice. *Cell* 122:473–483
- Dupuy AJ et al (2002) Mammalian germ-line transgenesis by transposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:4495

- Eyjolfsson H et al (2016) Targeted delivery of nerve growth factor to the cholinergic basal forebrain of Alzheimer's disease patients: application of a second-generation encapsulated cell bio-delivery device. *Alzheimer's Res Ther* 8:30
- Feins S et al (2019) An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer. *Am J Hematol* 94(S1):S3–S9
- Garrels W et al (2011) Germline transgenic pigs by Sleeping Beauty transposition in porcine zygotes and targeted integration in the pig genome. *PLoS ONE* 6:e23573
- Gogol-Döring A et al (2016) Genome-wide profiling reveals remarkable parallels between insertion site selection properties of the mlv retrovirus and the PiggyBac transposon in primary human CD4(+) T cells. *Mol Ther* 24:592–606
- Gordon JW et al (1980) Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:7380–7384
- Grabundzija I et al (2013) Sleeping Beauty transposon-based system for cellular reprogramming and targeted gene insertion in induced pluripotent stem cells. *Nucleic Acids Res* 41:1829–1847
- Gross G et al (1989) Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:10024–10028
- Hackett PB et al (2010) A transposon and transposase system for human application. *Mol Ther* 18:674–683
- Holstein M et al (2018) Efficient non-viral gene delivery into human hematopoietic stem cells by minicircle Sleeping Beauty transposon vectors. *Mol Ther* 26:1137–1153
- Hudecek M, Ivics Z (2018) Non-viral therapeutic cell engineering with the Sleeping Beauty transposon system. *Curr Opin Genet Dev* 52:100–108
- Hudecek M et al (2017) Going non-viral: the Sleeping Beauty transposon system breaks on through to the clinical side. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 52:355–380
- Itoh M et al (2020) Footprint-free gene mutation correction in induced pluripotent stem cell (iPSC) derived from recessive dystrophic epidermolysis bullosa (RDEB) using the CRISPR/Cas9 and PiggyBac transposon system. *J Dermatol Sci* 98:163–172
- Ivics Z et al (1997) Molecular reconstruction of Sleeping Beauty, a Tc1-like transposon from fish, and its transposition in human cells. *Cell* 91:501–510
- Ivics Z et al (2009) Transposon-mediated genome manipulation in vertebrates. *Nat Methods* 6:415–422
- Ivics Z et al (2014a) Germline transgenesis in pigs by cytoplasmic microinjection of Sleeping Beauty transposons. *Nat Protoc* 9:810–827
- Ivics Z et al (2014b) Germline transgenesis in rabbits by pronuclear microinjection of Sleeping Beauty transposons. *Nat Protoc* 9:794–809
- Ivics Z et al (2014c) Germline transgenesis in rodents by pronuclear microinjection of Sleeping Beauty transposons. *Nat Protoc* 9:773–793
- Iyer PS et al (2018) Autologous cell therapy approach for Duchenne muscular dystrophy using PiggyBac transposons and mesoangioblasts. *Mol Ther* 26:1093–1108
- Izsvák Z et al (2000) Sleeping Beauty, a wide host-range transposon vector for genetic transformation in vertebrates. *J Mol Biol* 302:93–102
- Izsvák Z et al (2004) Healing the wounds inflicted by Sleeping Beauty transposition by double-strand break repair in mammalian somatic cells. *Mol Cell* 13:279–290
- Katter K et al (2013) Transposon-mediated transgenesis, transgenic rescue, and tissue-specific gene expression in rodents and rabbits. *FASEB J* 27:930–941
- Kawakami K et al (2017) Transposons as tools for functional genomics in vertebrate models. *Trends Genet* 33:784–801
- Kebrl P et al (2016) Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *J Clin Invest* 126:3363–3376
- Kesselring L et al (2020) A single amino acid switch converts the Sleeping Beauty transposase into an efficient unidirectional excisionase with utility in stem cell reprogramming. *Nucleic Acids Res* 48:316–331
- Kohrman DC et al (1995) Insertional mutation of the motor endplate disease (med) locus on mouse chromosome 15. *Genomics* 26:171–177

- Kues WA et al (2013) Derivation and characterization of Sleeping Beauty transposon-mediated porcine induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev* 22:124–135
- Kumar D et al (2020) Potential of transposon-mediated cellular reprogramming towards cell-based therapies. *World J Stem Cells* 12:527–544
- Li H et al (2018) Antitumor activity of EGFR-specific CAR T cells against non-small-cell lung cancer cells in vitro and in mice. *Cell Death Dis* 9:177
- Li T et al (2016) Efficient production of fluorescent transgenic rats using the PiggyBac transposon. *Sci Rep* 6:33225
- Liang Q et al (2009) Chromosomal mobilization and reintegration of Sleeping Beauty and PiggyBac transposons. *Genesis* 47:404–408
- Ma Y et al (2020) EGFRvIII-specific CAR-T cells produced by PiggyBac transposon exhibit efficient growth suppression against hepatocellular carcinoma. *Int J Med Sci* 17:1406–1414
- Magnani CF et al (2020a) Sleeping Beauty-engineered CAR T cells achieve antileukemic activity without severe toxicities. *J Clin Invest* 130(11):6021–6033
- Mátés L et al (2009) Molecular evolution of a novel hyperactive Sleeping Beauty transposase enables robust stable gene transfer in vertebrates. *Nat Genet* 41:753–761
- Miskey C et al (2022) Engineered Sleeping Beauty transposase redirects transposon integration away from genes. *Nucleic Acids Res* 50(5):2807–2825
- Moldt B et al (2011) Comparative genomic integration profiling of Sleeping Beauty transposons mobilized with high efficacy from integrase-defective lentiviral vectors in primary human cells. *Mol Ther* 19:1499–1510
- Molina-Estevez FJ et al (2013) Brief report: impaired cell reprogramming in nonhomologous end joining deficient cells. *Stem Cells* 31:1726–1730
- Morokawa H et al (2020) Autologous non-human primate model for safety assessment of PiggyBac transposon-mediated chimeric antigen receptor T cells on granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor. *Clin Transl Immunol* 9:e1207
- Narayanavari SA et al (2017) Sleeping Beauty transposition: from biology to applications. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 52:18–44
- Neumeyer J et al (2019) Bioengineering hemophilia A-specific microvascular grafts for delivery of full-length factor VIII into the bloodstream. *Blood Adv* 3:4166–4176
- Paludan SR, Bowie AG (2013) Immune sensing of DNA. *Immunity* 38:870–880
- Prommersberger S et al (2021) CARAMBA: a first-in-human clinical trial with SLAMF7 CAR-T cells prepared by virus-free Sleeping Beauty gene transfer to treat multiple myeloma. *Gene Ther* 28(9):560–571
- Rostovskaya M et al (2012) Transposon-mediated BAC transgenesis in human ES cells. *Nucleic Acids Res* 40:e150
- Sandoval-Villegas N et al (2021) Contemporary transposon tools: a review and guide through mechanisms and applications of Sleeping Beauty, *PiggyBac* and *Tol2* for genome engineering. *Int J Mol Sci* 22(10):5084
- Sebe A, Ivics Z (2016) Reprogramming of human fibroblasts to induced pluripotent stem cells with Sleeping Beauty transposon-based stable gene delivery. *Methods Mol Biol* 1400:419–427
- Shen D et al (2018) Enhancer trapping and annotation in zebrafish mediated with Sleeping Beauty, PiggyBac and Tol2 transposons. *Genes (Basel)* 9:630
- Sumiyama K et al (2010) A simple and highly efficient transgenesis method in mice with the Tol2 transposon system and cytoplasmic microinjection. *Genomics* 95:306–311
- Suster ML et al (2009) Transposon-mediated BAC transgenesis in zebrafish and mice. *BMC Genom* 10:477
- Talluri TR et al (2015) Derivation and characterization of bovine induced pluripotent stem cells by transposon-mediated reprogramming. *Cell Reprogram* 17:131–140
- Tipanee J et al (2017) Transposons: moving forward from preclinical studies to clinical trials. *Hum Gene Ther* 28:1087–1104
- Voigt F et al (2016) Sleeping Beauty transposase structure allows rational design of hyperactive variants for genetic engineering. *Nat Commun* 7:11126

- Wang P et al (2020) PiggyBac-engineered T cells expressing a glypican-3-specific chimeric antigen receptor show potent activities against hepatocellular carcinoma. *Immunobiology* 225:151850
- Wang Z et al (2004) Detection of integration of plasmid DNA into host genomic DNA following intramuscular injection and electroporation. *Gene Ther* 11:711–721
- Wilkie TM, Palmiter RD (1987) Analysis of the integrant in MyK-103 transgenic mice in which males fail to transmit the integrant. *Mol Cell Biol* 7:1646–1655
- Zakrzewski W et al (2019) Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Res Ther* 10:68
- Zhang Z et al (2019) Modified CAR T cells targeting membrane-proximal epitope of mesothelin enhances the antitumor function against large solid tumor. *Cell Death Dis* 10:476

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Achim Aigner

6.1 Einleitung

Die Verwendung von Nucleinsäuren als Therapeutika hat in den letzten Jahrzehnten – und im Fall von RNA-Molekülen speziell in den letzten Jahren – neue therapeutische Möglichkeiten eröffnet. Jenseits anderer, konventioneller Wirkstoffe, die vor allem auf Proteinebene wirken, lassen sich so innovative Wirkprinzipien erschließen, die auf DNA- bzw. RNA-Ebene eingreifen und damit eine direkte und spezifische Beeinflussung der Proteinbiosynthese gestatten. Hierbei kann zunächst grob zwischen verschiedenen Strategien unterschieden werden: klassische Gentherapie („gene replacement“ bzw. „gene addition“), Herabregulation einer Genexpression („gene knockdown“) über Antisense-Oligonukleotide (ASO) oder RNA-Interferenz (RNAi), Splicing-Korrektur¹ („exon skipping“ im Sinne einer Korrektur des Leserasters bei der Genexpression über Antisense-Oligonukleotide) und gentechnische Veränderungen („gene/genome engineering/editing“) unter Einbringung fremden genetischen Materials über spezifische Designernukleasen wie CRISPR/Cas. Neuerdings hat auch – und nicht nur im Kontext der neuen Impfstoffe gegen SARS-CoV-2 – mRNA („messenger RNA“) als Therapeutikum oder therapeutisches Zielmolekül an Attraktivität gewonnen. Gerade im Fall der RNA-basierten Therapeutika, wozu mRNAs,² die RNAi-induzierenden „small interfering

¹Splicing (dt.: Spleißen) bezeichnet einen Prozess in der Weiterverarbeitung einer Vorläufer RNA zur reifen mRNA in der Zelle. Hierbei werden einzelne Abschnitte („Introns“) entfernt und die dann verbleibenden „Exons“ zur reifen mRNA verbunden.

²Siehe auch: Fehse et al. (2022).

A. Aigner (✉)

Medizinische Fakultät, Selbstständige Abteilung Klinische Pharmakologie am Rudolf-Boehm-Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Leipzig, Leipzig, Deutschland
e-mail: Achim.Aigner@medizin.uni-leipzig.de

RNAs“ (siRNAs) sowie andere kleine RNAs wie microRNAs (miRNAs; agomiRs) oder miRNA-inhibierende antimiriRs gehören, wird jedoch die besondere Bedeutung von Formulierungen („Verpackungen“) deutlich, um diese RNAs therapeutisch anwenden zu können. Denn bei allen Vorteilen in der Wirkweise zeigen nukleinsäurebasierte Therapeutika auch wesentliche Nachteile: So sind Nukleinsäuren vergleichsweise große und stark geladene Moleküle mit, gerade im Fall chemisch nichtmodifizierter RNAs, sehr geringer Stabilität und damit extrem kurzer Halbwertszeit. Zugleich wird durch ihre Molekülgröße und Ladung die Aufnahme in die Zellen – eine notwendige Voraussetzung für ihre Wirksamkeit, da sich ihr Wirkort in der Zelle befindet, – deutlich erschwert. Zwar können einzelsträngige kurze DNA-Stücke auch ohne chemische Hilfsmittel (Transfektionsreagenzien)³ in Zellen aufgenommen werden (dieser Prozess wird als Gymnosis⁴ bezeichnet), dies gilt jedoch nicht für andere Nukleinsäuren. Gerade die Instabilität und kurze Halbwertszeit von RNA-Molekülen machten sie zunächst ungeeignet als Therapeutika, da sie so kaum in der Lage sind, intakt ihren Wirkort zu erreichen. Zwar wurden über die letzten Jahrzehnte eine Vielzahl chemischer Modifikationen entwickelt, die mit der Zielsetzung einer Stabilitätserhöhung (Schutz gegen Abbau), Erhöhung der Bindungsstärke an ein Zielmolekül (Affinität und Spezifität) und Verbesserung der Verträglichkeit (verminderte Immunantwort) deutliche Vorteile gebracht haben (Behlke 2008), dennoch stellt der effiziente Transport der jeweiligen Nukleinsäure an den Wirkort weiterhin eine wesentliche Problematik dar. Dies hat schon früh zur Entwicklung nichtviraler Einschleusungssysteme, sog. nichtviraler Vektoren,⁵ geführt, die im Laufe der Jahre immer leistungsfähiger und an die verschiedenen Nukleinsäurearten adaptiert wurden. Nanotechnologiebasierte Gen- und Oligonukleotid-Einschleusung ist damit ein Forschungsgebiet innerhalb der Nanomedizin, das sich mit Nanomaterialien zur Formulierung von Nukleinsäuren für deren Anwendung *in vitro* (in der Zellkultur) und *in vivo* (im lebenden Organismus, einschließlich dem Menschen) befasst. Durch neuere Zelltherapieansätze mit der Notwendigkeit, beispielsweise Immunzellen (T-Zellen, NK-Zellen) genetisch zu modifizieren und hierfür evtl. auch nichtvirale Strategien einzusetzen, sind dabei auch *In-vitro*-Verwendungen von potenziell klinisch-translacionalem Interesse.

Während bei den neueren RNA-basierten Wirkstoffen von früheren Entwicklungen im Kontext von DNA profitiert werden konnte, wurde auch immer klarer, dass es keine einheitliche „one-fits-all“-Lösung geben kann, sondern unterschiedliche nichtvirale Vektorsysteme mit jeweils spezifischen Vor- und Nachteilen und für jeweils bestimmte Nukleinsäure- bzw. Oligonukleotid-Wirkstoffe⁶ erforder-

³„Transfektion“ bezeichnet das Einbringen von Nukleinsäuren in Zellen ohne die Verwendung von Viren.

⁴„Gymnosis“ bezeichnet die Einschleusung von Antisense-Oligodesoxynukleotiden in Zellen in Abwesenheit eines Transfektionsreagens oder eines Konjugationspartners.

⁵Ein Vektor ist ein Carrier (Träger), mit dessen Hilfe genetisches Material an sein Ziel transportiert wird.

⁶Oligonukleotide sind kurze einzel- oder doppelsträngige Segmente von Nukleinsäuren. Die Begriffe „Oligonukleotid“ und „Nukleinsäure“ werden im Folgenden jedoch synonym verwendet, sofern nicht ausdrücklich auf kurze Segmente abgehoben wird.

lich sind. Neben der Größe und chemischen Zusammensetzung der jeweiligen Nukleinsäure bezieht sich dies auch auf das Zielkompartiment,⁷ also die Strukturen bzw. Räume, die in der Zelle erreicht werden müssen. Während DNA für klassische Gentherapie in den Zellkern transportiert werden muss, ist dies für RNAs nicht der Fall, da diese im Zytoplasma wirken.

Weiterhin erweist es sich auch als schwierig, Daten aus In-vitro-Experimenten, also klassischerweise aus zweidimensionaler Zellkultur in einer Kulturschale, auf eine In-vivo-Situation, d. h. in einem Gesamtorganismus, zu übertragen. So werden oftmals im lebenden Organismus nicht die erwarteten und in der Zellkultur beobachteten Ergebnisse reproduziert und spezifische Eigenschaften im Körper wie die Bioverteilung, Gewebspenetration, Verweilzeit und Ausscheidung können in der Zellkultur nicht hinreichend oder gar nicht erfasst werden. Tatsächlich kann es in vivo zu einer schnellen Ausscheidung von Nanocarriern kommen mit einhergehend geringer therapeutischer Wirkung, andererseits können einige Nanomaterialien oder deren Komponenten aber auch schlecht ausgeschieden werden und verbleiben für längere Zeit z. B. in der Leber oder in der Milz. Bei der Entwicklung nichtviraler Vektoren ist daher auch die Verfügbarkeit geeigneter Testsysteme von entscheidender Bedeutung, was die Einbeziehung komplexerer, dreidimensionaler Labormodelle wie z. B. Organoide oder Spheroide ebenso einschließen sollte wie Tierversuche, da nur diese alle Aspekte einschließlich Verstoffwechslung und Ausscheidung abdecken können. Ein umfassendes Bild kann dabei nur durch die Kombination verschiedener Testsysteme erhalten werden.

Viele nichtvirale Vektoren stellen Nanopartikel (Nanocarrier)⁸ dar, die wiederum viralen Systemen mehr oder weniger nachempfunden sind (Wicki et al. 2015). Viren zeigen zwar oft eine hohe Effizienz bei der Einschleusung von Nukleinsäuren, sind jedoch auch mit erheblichen Nachteilen verbunden. So sind sie vergleichsweise aufwendig in der Herstellung, zeigen Problematiken bzgl. Biosicherheit und Immunogenität, und sind nicht für alle Nukleinsäuren geeignet. Nichtvirale Systeme können aus ganz unterschiedlichen Materialien bestehen; sie besitzen oftmals höhere Nukleinsäure-Beladungskapazitäten und geringere Immunogenität. Für eine Übersicht siehe Tab. 6.1 und Abb. 6.1. Zusätzlich können sie an ihrer Oberfläche noch gezielt verändert werden, um sie im Sinne einer zielgerichteten Einschleusung („targeted delivery“) mit spezifischen Bindungseigenschaften für die Zielzellen zu versehen (Viola et al. 2010), wie dies auch bei viralen Vektoren möglich bzw. bei einigen Viren per se gegeben ist. Hier bestehen jedoch wesentliche Anforderungen darin, geeignete Zielstrukturen auf der Oberfläche der Zielzellen zu identifizieren, entsprechende Bindungsmoleküle (Antikörper, Peptide, andere Moleküle) zu entwickeln und in geeigneter Weise an den Nanopartikel zu koppeln. Ferner muss dieser von seinen Eigenschaften so gestaltet sein, dass er nach seiner Einbringung in den Körper

⁷Zellkompartimente sind verschiedenartige Räume innerhalb einer Zelle, z. B. Zellorganellen.

⁸Die Begriffe „Nanopartikel“ und „Nanocarrier“ werden im Folgenden synonym verwendet für Systeme im dreidimensional nanoskaligen Bereich, die Wirkstoffe wie z. B. Nukleinsäuren transportieren können.

Tab. 6.1 Wichtige nichtvirale Vektoren

Nanocarrier-Typ	Kurze Beschreibung bzw. Beispiele	Häufige vorteilhafte Eigenschaften
Lipidbasiert (Liposomen, „solid-lipid nanoparticles“, Micellen o. Ä.)	Basierend auf synthetischen oder natürlichen Lipiden bzw. lipidähnlichen Materialien, häufig kationisch bzw. kationisierbar und häufig in einer definierten Kombination verschiedener Komponenten	Effiziente zelluläre Aufnahme, Biokompatibilität, Biodegradierbarkeit, Modifizierbarkeit
Polymerbasiert (lineare oder verzweigte Polymere, Kopolymere, Dendrimere o. Ä.)	Bioabbaubare oder nicht abbaubare Komponenten, z. B. PAMAM (Polyamidoamin), PEI (Polyethylenimin), PVI (Polyvinylimidazol), PPI (Polypropylenimin), Dextran, Polylysin, Polypeptide einschl. CPPs, Poloxamere, Chitosan	Leichte und reproduzierbare Herstellbarkeit, in einigen Fällen Biodegradierbarkeit und Biokompatibilität, breite chemische Modifizierbarkeit
Anorganisch (Metalle, Metalloxide)	Gold, Eisenoxid (SPIONs)	Definierte, kleine Partikelgrößen, multifunktionelle Anwendungen (z. B. als Theranostics), Oberflächenfunktionalisierbarkeit
Silica-Nanopartikel	Poröse Nanopartikel zur Adsorption einer Nukleinsäure an der Oberfläche und/oder Aufnahme in die Poren	Hohe mechanische und physikalische Stabilität, kontrollierbare Eigenschaften (Porosität usw.), Oberflächenfunktionalisierbarkeit
Carbonbasierte Nanocarrier (Carbonnanoröhren, „single walled carbon nanotubes“)	Nicht nanoskalig in der 3. Dimension	Hohe Beladungskapazität, Penetration durch biologische Barrieren, kolloidale Stabilität
Kopplung von Liganden	„Targeted delivery“ z. B. in Hepatozyten (GalNAc) oder andere spezifische Zielzellen (Antikörper, Peptide, CPPs, Aptamere, best. Kohlenhydrate)	Hohe Zielzellspezifität

den Zielort auch tatsächlich erreichen kann. Diese Limitationen haben auch dazu geführt, dass – im Bereich der Nukleinsäureeinschleusung und darüber hinaus – das Konzept des „targeted delivery“ zwar schon lange verfolgt wird, aber aus der Forschung noch nicht die breite Translation in die Klinik gefunden hat. Eine Ausnahme ist hier die direkte Kopplung von Bindungsmolekülen an Oligonukleotide, speziell von GalNAc (N-Acetyl-galactosamin) an siRNAs zu deren Aufnahme in Leberzellen (Hepatozyten): So sind in den letzten fünf Jahren mehrere siRNA-Therapeutika zugelassen worden, die mit einer Ausnahme (siehe Abschn. 6.3) alle auf der chemischen Modifikation der siRNA und deren GalNAc-Kopplung basieren (Cedillo et al. 2017). Es erfolgt so über GalNAc eine Bindung an den Asialoglycoprotein-Rezeptor (ASGR) auf der Oberfläche der

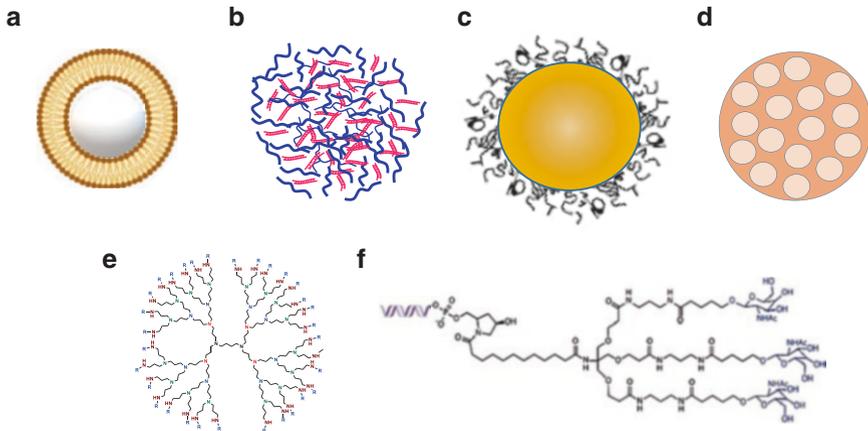


Abb. 6.1 Grafische Darstellung wichtiger nichtviraler Vektoren

a: Liposom; **b:** Polymerer Nanopartikel (Polyplex), bestehend aus einem Polymer (blau) und einem Oligonukleotid (rot); **c:** Metallnanopartikel mit Oberflächenmodifikation; **d:** Silica-Nanopartikel; **e:** Dendrimer; **f:** GalNAc-Konjugat einer siRNA (ganz links)

Hepatozyten mit einer anschließenden rezeptorvermittelten Aufnahme des siRNA-Konjugats in die Zelle. Im Fall von siRNA-Therapeutika, die in der Leber jeweils den gezielten Knockdown eines Zielgens bewirken sollen, wird damit eine sehr hohe Effizienz erzielt. In den Jahren 2019 bis 2022 wurden vier siRNA-Therapeutika, die auf GalNAc-Konjugaten beruhen, durch die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) bzw. die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) zugelassen: Givosiran (Givlaari®), Inclisiran (Leqvio®), Vutrisiran (Amvuttra®) und Lumasiran (Oxluma®) (Friedrich und Aigner 2022). Lediglich Patisiran (Onpattro®) ist ein siRNA-Therapeutikum, das auf einem Lipidnanopartikel als Carrier beruht; dies wird weiter unten noch detaillierter besprochen. Für andere Organe oder Zelltypen sind dem GalNAc vergleichbare Liganden, d. h. spezifische Bindungsmoleküle für einen Rezeptor, jedoch nicht in gleichem Maße verfügbar. Dennoch wird die chemische Kopplung von Nucleinsäuren an andere Kopplungspartner wie Peptide (z. B. „Glucagon-like peptide 1“, GLP1 oder „cell-penetrating peptides“, CPPs; siehe Abschn. 6.4), Lipide (z. B. Cholesterin), bestimmte Kohlenhydrate, Antikörper oder Aptamere⁹ weiterhin intensiv erforscht.

Andere wichtige Oberflächenmodifikationen von Nanopartikeln jenseits eines „targeted delivery“ zielen auf deren Abschirmung gegenüber unerwünschten Interaktionen mit bestimmten Zellen und Organen ab. So können Nanocarrier weniger immunogen gemacht werden oder aber in ihrer Bioverteilung nach Injektion z. B. in die Blutbahn verändert werden. Hier ist vor allem an eine möglichst weitgehende Vermeidung der Aufnahme in die Leber (sog. „de-targeting from the liver“) gedacht.

⁹Ein Aptamer ist ein kurzes einzelsträngiges DNA- oder RNA-Oligonukleotid, das eine definierte dreidimensionale Struktur ausbildet und so spezifisch binden kann.

Eine wichtige Modifikation ist z. B. die chemische Kopplung des Polymers Polyethylenglykol (sog. PEGylierung). Allerdings wird PEG selbst, trotz der bereits jahrzehntelangen Verwendung PEGylierter Produkte, aufgrund möglicher Immunaktivierungen und anderer Nebenwirkungen mittlerweile auch kritisch hinterfragt (Knop et al. 2010).

Jedoch wurde gerade in den letzten Jahren auch zunehmend deutlich, dass die biologischen Eigenschaften von Nanocarriern, insbesondere nach deren Verabreichung in vivo, nicht nur durch ihre Oberflächeneigenschaften bestimmt werden, die sich aus ihrer Materialzusammensetzung und evtl. Oberflächenmodifikationen ergeben, sondern auch durch biologische Komponenten im Organismus, die sich an der Oberfläche anlagern und adsorbiert werden. Diese können eine sog. Nanopartikel-Corona¹⁰ bilden, wobei hier nochmals zwischen der sog. „hard corona“ und der „soft corona“ unterschieden wird (Tenzer et al. 2013). Erstere wird von biologischen Komponenten, vor allem Proteinen, gebildet, die fest an die Oberfläche adsorbieren und dort tendenziell eher verbleiben, während in letzterem Fall aufgrund einer weniger festen Bindung ein dynamischeres Gleichgewicht zwischen Adsorption und Desorption (Anlagerung und Ablösung) besteht und sich die Zusammensetzung der „soft corona“ damit abhängig von der biologischen Umgebung wieder ändern kann. Damit beeinflusst die Umgebung der Nanocarrier, z. B. an einer bestimmten Stelle im Körper, deren tatsächliche Eigenschaften am Wirkort durchaus mit, was sich positiv oder negativ auswirken kann, aber die Limitationen einer Nanocarrier-Analytik aufzeigt, wenn diese ausschließlich in einer künstlichen Laborumgebung und/oder in nicht physiologischen Lösungen durchgeführt wird.

6.2 Nichtvirale Vektoren: generelle Anforderungen und Eigenschaften

Nanocarrier, die hier in der erweiterten Definition¹¹ alle Partikel im dreistelligen Nanometer-Bereich (d. h. kleiner 1 μm) umfassen sollen, zeigen im Vergleich zu größeren Partikeln ein wesentlich höheres Oberflächen-Volumen-Verhältnis. Durch diesen höheren Anteil an Oberflächenatomen können Materialien aus Nanopartikeln andere mechanische, elektronische, chemische, optische und biologische Eigenschaften haben. Letzteres ist vor allem bedeutsam, wenn es darum geht, dass Nanocarrier eine gute Gewebspenetration zeigen und über spezifische, zelleigene Mechanismen wie die sog. Endozytose¹² von Zellen aufgenommen werden können.

¹⁰Der Begriff „Corona“ bedeutet hier eine proteinreiche Schicht um den Nanopartikel, die sich spontan bildet, wenn ein Nanopartikel einer biologischen Umgebung ausgesetzt ist und Komponenten daraus an dessen Oberfläche adsorbieren.

¹¹Im engeren Sinne gilt das Kriterium der Nanoskaligkeit nur für ein Längenintervall von ca. 1–100 nm als erfüllt; siehe z. B. ISO/TS 80004-2:2015 unter: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-2:ed-1:v1:en> [23.04.2023].

¹²„Endozytose“ bezeichnet die Aufnahme von Substanzen (hier: von Nanopartikeln) aus der Zellumgebung in die Zelle.

Grundsätzlich werden die Eigenschaften verschiedener Nanocarrier von deren Materialeigenschaften wie z. B. Lipidzusammensetzung, Polymerchemie und -kettenlänge, chemische Modifikationen usw. bestimmt. Sie sollen eine effiziente Verpackung der Nukleinsäure, deren Schutz und deren Freisetzung am Wirkort sicherstellen. Die Nanopartikelgröße und -oberflächenladung sowie die Löslichkeit der Nanopartikel und deren Stabilität gegen Zerfall oder Aggregation bestimmen auch die biologischen Eigenschaften (Petros und DeSimone 2010). Die Nanocarrier müssen biokompatibel, d. h. nicht toxisch und nicht immunogen sein. Sie sollten eine günstige Pharmakokinetik aufweisen, die durch die Verteilung im Organismus, Stabilität, Biodegradation und Ausscheidung bestimmt wird. Speziell sollten keine Interaktionen mit Blutkomponenten auftreten und keine Ausscheidung durch das sog. retikuloendotheliale System (RES)¹³ erfolgen. Bei der Anreicherung der Nanopartikel an den Wirkort kann zwischen dem passiven und dem aktiven Targeting unterschieden werden: In ersterem Fall bilden mikroanatomische Eigenschaften der Gewebe wie eine gute Durchlässigkeit der Blutgefäßwand für Nanopartikel oder eine generell begünstigte Aufnahme z. B. in Tumoren (sog. EPR-Effekt, „enhanced permeability and retention“) die Grundlage für eine Anflutung. Im Fall des „active targeting“ wird dieser Prozess durch an der Nanopartikeloberfläche gekoppelte Liganden unterstützt, indem diese an Zielzellen binden, damit die Nanopartikel dort anreichern und ggf. auch deren Aufnahme in die Zelle unterstützen. Unabhängig von einem Liganden wird nach einer Aufnahme in die Zelle über Endozytose jedoch häufig das sog. endosomal-lysosomale System erreicht, das aufgenommene Substanzen wieder abbaut und ausschleust und damit dem gewünschten Effekt einer Nukleinsäureeinschleusung entgegensteht. Wesentliche weitere Anforderungen an ein Nanopartikelsystem sind somit auch der Schutz der Nukleinsäure gegen diesen Abbau sowie eine Freisetzung in das Zytoplasma der Zelle.

Weitere Anforderungen beziehen sich auf eine möglichst einfache Zulassung (was sich gerade bei Mehrkomponentensystemen als schwierig erweisen kann) sowie auf eine möglichst einfache Produktion, ein günstiges Kosten-Nutzen-Profil, eine hohe Chargenstabilität, die Möglichkeit eines Upscaling bei der Herstellung sowie eine gute Lagerbarkeit bzw. einfache Bereitstellung und Anwendung (Mashel et al. 2020).

Am weitesten verbreitet und am besten untersucht sind lipidbasierte Nanocarrier, die bereits in den 1960er-Jahren beschrieben wurden (Sessa und Weissmann 1968; Deamer 2010) und vielfältig auch jenseits der Zell- und Gentherapie Verwendung finden; weitere große Gruppen sind polymerbasierte Nanocarrier, anorganische Nanopartikel oder vielfältige Kombinationen aus diesen Materialien (Kanasty et al. 2013; Wicki et al. 2015; Hammond et al. 2021; Zu und Gao 2021; Jiang et al. 2022). Nur in bestimmten Fällen können auch Nukleinsäurekonjugate verwendet werden, die dann jedoch meist kleiner sind als Nanopartikel. Alle diese Systeme haben in den letzten Jahren deutliche Weiterentwicklungen erfahren, im Hinblick auf (i) die Beschreibung neuer Nanocarrier, (ii) die Translation von Nanopartikeln in die klinische Verwendung und/oder (iii) die Adaptation von Nanocarriern an andere Anforderungen (andere Nukleinsäuren/Zielzellen).

¹³Das retikuloendotheliale System ist ein Teil des Infektions- und Fremdstoffabwehrsystems beim Menschen und bei anderen Wirbeltieren.

6.3 Lipidbasierte Nanocarrier

Lipidbasierte Systeme werden schon lange für die Gentransfektion, d. h. für die Einschleusung von Genen in Zellen, eingesetzt (Felgner et al. 1987). Lipidnanopartikel (LNPs) können aus synthetischen oder natürlichen Lipiden sowie lipidähnlichen Materialien bestehen; sie sind die mittlerweile am breitesten untersuchten und klinisch am weitesten vorangekommenen Nanocarrier. Die meisten Lipide bestehen neben ihrem wasserunlöslichen, wassermeidenden (hydrophoben) Teil aus einer positiv geladenen (kationischen) sog. Kopfgruppe, die mit den negativ geladenen Phosphatgruppen von Nukleinsäuren elektrostatisch interagieren können und so zur Bildung von sog. Lipopolyplexen führen. Da sich in einem wässrigen Milieu die hydrophoben Ketten selbstassemblieren, d. h. definiert zusammenlagern, können hoch geordnete Strukturen entstehen wie z. B. Liposomen, die analog zu Zellmembranen aus einer Lipiddoppelschicht aufgebaut sind und innen eine wässrige Phase einschließen. Konventionelle Lipide besitzen pro Molekül eine Kopfgruppe mit einer permanent positiven Ladung. Der hydrophobe Anteil kann wiederum aus gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren bestehen. Die Art der Kopfgruppe und der Fettsäure bestimmen die Eigenschaften des Nanocarriers. Es gibt viele klassische Beispiele für solche permanent positiv geladenen Lipide wie z. B. DOTAP,¹⁴ die ausgiebig im Hinblick auf Nukleinsäureeinschleusung untersucht worden sind. Jedoch können diese Lipide aufgrund ihrer positiven Ladung auch ein toxisches Potenzial entfalten und zeigen gerade bei der In-vivo-Anwendung andere nicht optimale Eigenschaften wie kurze Halbwertszeiten bis zu ihrer Ausscheidung. Aus diesem Grund wurden sog. ionisierbare Lipide entwickelt, die in einer physiologischen Umgebung neutral sind und nur unter bestimmten Bedingungen, z. B. bei niedrigerem pH-Wert, eine positive Ladung annehmen (Akinc et al. 2008; Sato et al. 2012). Dies ist bedeutsam, weil dadurch die Nanocarrierbeladung mit Nukleinsäuren begünstigt ist und in der Zelle eine Freisetzung aus dem endosomal-lysosomalen System (siehe Abschn. 6.2) vermittelt werden kann. Tatsächlich wurde ein solches Lipid, DLin-MC3-DMA,¹⁵ als für die siRNA-Formulierung besonders geeignet identifiziert und bildete die Grundlage für die Zulassung des ersten siRNA-Therapeutikums, Patisiran (Onpattro®), durch die FDA und die EMA im Jahr 2018 zur Behandlung der Transthyretin-vermittelten Amyloidose (Adams et al. 2018). Neben diesen Lipiden mit permanenter oder induzierbarer kationischer Ladung werden oftmals noch neutrale sog. Helferlipide zugesetzt, die die Nanopartikelstabilität, die intrazelluläre Prozessierung und damit auch die Transfektionseffizienz erhöhen. DOPE¹⁶ und Cholesterin sind hier die am weitesten verwendeten Helferlipide.

Auch die mRNA-basierten COVID-19-Impfstoffe BNT162b2, mRNA-1273 und CVnCoV sind LNP-Formulierungen, wobei die beiden Erstgenannten im Dezember 2020 eine Notfallzulassung erhielten (Jackson et al. 2020; Walsh et al. 2020). Die

¹⁴ „DOTAP“ steht für 1,2-Dioleoyl-3-trimethylammoniumpropan.

¹⁵ „DLin-MC3-DMA“ steht für (6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriacont-6,9,28,31-tetraene-19-yl 4 (dimethylamino)butanoate.

¹⁶ „DOPE“ steht für 1,2-di-(9Z-octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphoethanolamin.

vergleichsweise sehr rasche Entwicklung der mRNA-Impfstoffe beruhte damit nicht nur auf den Ergebnissen vorangegangener jahrzehntelanger RNA-Forschung zu mRNA-Synthesen, Sequenzoptimierungen und chemischen Modifikationen, sondern auch auf der Verfügbarkeit von Nanocarriern zur Verpackung von mRNA für deren therapeutische Applikation. Präklinisch wurden LNPs gleichfalls bereits erfolgreich zur Einschleusung von Nukleinsäuren zur Induktion von CRISPR/Cas verwendet, zur genetischen Editierung verschiedener Zelltypen (Cheng et al. 2020; Rosenblum et al. 2020).

Einen Sonderfall lipidbasierter Nanopartikel stellen die sog. Exosomen bzw. extrazellulären Vesikel (ECVs) dar, die natürlicherweise von Zellen gebildet und in ihre Umgebung abgegeben werden, um dann von anderen Zielzellen aufgenommen werden zu können. Da sie DNA, RNA und Proteine der Mutterzelle enthalten, die in Exosomen in konzentrierter Form an die Zielzelle weitergegeben werden, vermitteln sie eine effiziente Kommunikation zwischen verschiedenen Zellen im Körper. Als natürlich vorkommende nanoskalige Vesikel sind sie besonders biokompatibel und besitzen, je nach ihren Oberflächeneigenschaften, auch eine gewisse Zielzellspezifität im Sinne eines „targeted delivery“. Auch solche Exosomen werden daher zur gezielten Beladung mit Nukleinsäuren für deren therapeutische Einschleusung erforscht und bereits in einigen klinischen Studien erprobt. Wesentliche Problematiken sind jedoch u. a. ihre reproduzierbare Gewinnung in größerem Maßstab, ihre effiziente Beladung sowie ihre natürliche Heterogenität im Hinblick auf ihre Zusammensetzung und vor allem auf ihren Inhalt („Cargo“) aus den Spenderzellen, aus denen sie gewonnen wurden (Schulz-Siegmund und Aigner 2021).

6.4 Polymerbasierte Nanocarrier

Vor allem kationische Polymere zeigen für die Verpackung und Einschleusung von Nukleinsäuren vorteilhafte Eigenschaften, da sie über elektrostatische Interaktionen mit den negativ geladenen Nukleinsäuren Komplexe (häufig auch als „Polyplexe“ bezeichnet) bilden können, die somit deren negative Ladung abschirmen und sie in Nanopartikeln verdichten. Diese Nanocarrier können damit den Schutz, die zelluläre Aufnahme über Endozytose und idealerweise auch die Freisetzung aus dem endosomal-lysosomalen System vermitteln. Im Fall künstlicher, d. h. chemisch hergestellter Polymere können die Synthesebedingungen zur Erreichung einer definierten Kettenlänge der Polymermoleküle angepasst werden. Diese Polymere können durch Kopplung anderer Polymere, anderer Moleküle oder auch gewebspezifischer Liganden weiter chemisch modifiziert werden (Kavand et al. 2020). Sie zeigen damit eine besonders große Bandbreite an physikochemischen Eigenschaften, die für entsprechende Anwendungen oder Anforderungen mit der Zielsetzung einer weitergehenden Optimierung der Eigenschaften der daraus gebildeten Nanopartikel angepasst werden können. Auch ein Upscaling der Synthese ist bei bekannter Struktur vergleichsweise einfach realisierbar.

Neben den zahlreichen chemischen Strukturen linearer bzw. verzweigter Polymere, oder auch komplexerer Strukturen wie Dendrimere, kann auch noch zwischen bioabbaubaren (biodegradierbaren) und nicht abbaubaren Polymeren unterschieden werden, je nachdem, ob es z. B. in Zellen zu einer chemischen Spaltung der Polymere kommen kann oder nicht. Einige wichtige Vertreter nicht abbaubarer Polymere bzw. Dendrimere sind PAMAM (Polyamidoamin), PEI (Polyethylenimin), PVI (Poly-(1-vinylimidazol)/Poly-(4-vinylimidazol)) oder PPI (Polypropylenimin). Nach der zellulären Aufnahme von Nanopartikeln ist deren intrazelluläre Prozessierung, d. h. der Transport des Nanopartikels in das richtige zelluläre Kompartiment und die dortige Freisetzung der Nukleinsäure, von entscheidender Bedeutung. Durch Aufnahme über Endozytose wird hierbei jedoch häufig das endosomal-lysosomale System erreicht, das genau dies verhindern und vielmehr zum Abbau der Nukleinsäure führen kann, ohne dass diese vorher an ihren Wirkort gelangt ist. Der sog. Protonenschwammeffekt bestimmter Polymere wie PEI oder PVI kann allerdings den dort herrschenden niedrigen pH-Wert abpuffern und zu einer Zerstörung von Endosomen/Lysosomen und damit der (erwünschten) Freisetzung der Nanopartikel daraus führen (Behr 1997).

Während sich kationische Polymere gut für die Komplexierung von Nukleinsäuren eignen, kann ihre positive Ladung im Hinblick auf Toxizität auch ein Problem darstellen. Hier hat es in den letzten Jahren und Jahrzehnten erhebliche Bemühungen gegeben, durch chemische Modifikationen die Biokompatibilität, d. h. die biologische Verträglichkeit der Polymere und der darauf basierenden Nanopartikel zu erhöhen, bei gleichzeitiger Erhaltung oder sogar Steigerung ihrer Effizienz. Neben Polymerkettenlänge und -verzweigungsgrad, die bei einigen Polymeren wie z. B. PEI eine entscheidende Rolle spielen können, erweist sich hierbei als günstig, dass Polymere diverse chemische Modifikationen gestatten bzw. eine lange Polymerkette auch aus verschiedenen kurzen, definierten Polymerketten zusammengesetzt sein kann. Handelt es sich dabei um verschiedene Polymerketten, spricht man auch von sog. Kopolymeren. Aus der Kombination kurzer Polymerketten bzw. Polymerabschnitte entstehen so Polymere mit neuen, durch die jeweiligen Beiträge der Einzelkomponenten bestimmten Eigenschaften. Hierbei können vor allem auch ungeladene oder sogar hydrophobe Komponenten wie Fettsäuren eingefügt werden, um andere als elektrostatische Interaktionen mit den Nukleinsäuren für die Komplexierung zu nutzen und/oder die Interaktion der entstandenen Nanopartikel mit der Membran der Zielzellen – und damit die Aufnahme der Nanopartikel in die Zelle – zu verbessern. Es können so ganze Substanzbibliotheken an sehr präzise veränderten bzw. aus kleinteiligen Bausteinen zusammengesetzten Makromolekülen gebildet werden, wie z. B. die sog. „sequence-defined oligoamides“ (OAAs) (Berger et al. 2021).

Die Abwesenheit von Toxizität ist, gerade im Fall einer wiederholten therapeutischen Gabe von Nukleinsäuren, ein wichtiges Kriterium. Hier können biodegradierbare Polymere vorteilhaft sein, wobei dies nicht den vollständigen Abbau, sondern nur die Spaltung in kleinere Polymereinheiten bedeuten muss, die dann jedoch leichter ausgeschieden werden können. Auch eine sonst potenziell mögliche kumu-

lative Toxizität durch wiederholte Gabe über einen längeren Therapiezeitraum kann so verhindert werden. Ein wichtiges biodegradierbares Polymer ist PLGA, das von der FDA und der EMA als Hilfsstoff für eine parenterale¹⁷ Verabreichung zugelassen ist und für niedermolekulare Wirkstoffe verwendet wird. PLGA-basierte Nanopartikel können aber auch als Nanocarrier für verschiedene Nukleinsäuren genutzt werden. Es wird über kontrollierbare und veränderbare Degradationskinetiken in monomere Untereinheiten gespalten und zeigt günstige Nanopartikeleigenschaften im Hinblick auf Gewebepenetration, zelluläre Aufnahme, kolloidale Stabilität¹⁸ und Biokompatibilität. Eine unter Umständen schnelle Ausscheidung aus der Blutzirkulation limitiert allerdings die Anwendbarkeit und damit die klinische Translation, was jedoch wiederum durch eine weitere Schutzschicht auf der PLGA-Nanopartikeloberfläche umgangen werden kann.

Chitosan ist ein anderes lineares, kationisches, bioabbaubares, nicht toxisches Polysaccharid, das verbreitet für Nukleinsäureeinschleusung eingesetzt wird. Als Produkt einer partiellen Deacetylierung¹⁹ von Chitin (aus Krustentieren) hängt seine Effizienz von seinem Molekulargewicht und dem Deacetylierungsgrad ab. Ähnlich anderen kationischen Polymeren beruht die Nanopartikelbildung auf der elektrostatischen Interaktion negativ geladener Nukleinsäuren mit dem positiv geladenen Polymer; die Effizienz der gebildeten Nanopartikel hängt von deren Größe und Oberflächenladung ab, wird jedoch auch durch eine vergleichsweise schlechte Löslichkeit limitiert.

Die Nanomaterialien können auch so gebaut sein, dass die Biodegradation bzw. Freisetzung der Nukleinsäure-„payload“ durch externe Stimuli kontrolliert wird. Dies können Änderungen im pH-Wert oder Reduktionsbedingungen sein, ebenso wie Stimuli von außen (Ultraschall, Wärme).

Polymere Vektoren können natürlichen oder synthetischen Ursprungs sein. Gerade natürliche Polymere besitzen oft eine sehr hohe Biokompatibilität; als Naturprodukte sind jedoch Chargeninstabilität, Produktqualität und -reinheit mögliche Probleme. Synthetische Polymere erlauben eine größere Bandbreite chemischer Modifikationen mit reproduzierbaren Ergebnissen bzgl. Chargenstabilität, Produktqualität und -reinheit sowie ein leichteres Upscaling in ihrer Produktion, müssen jedoch evtl. im Hinblick auf eine gesteigerte Interaktionseffizienz mit den gewünschten Zellen und einer Vermeidung von Toxizität weitergehend optimiert werden.

Auch Polypeptide, d. h. die Anordnung definierter Aminosäuren in einer Kette, können hier als polymere Nanocarrier aufgefasst werden. Gerade im Fall von Aminosäuren mit positiv geladenen Seitenketten wie beim Polyarginin und vor allem beim Polylysin (Poly-L-lysin, PLL) werden hierbei wiederum die Vorteile elektrostatischer Interaktionen genutzt. So führt die hohe Ladungsdichte von PLL

¹⁷ „Parenteral“ bezeichnet eine Gabe „am Magen-Darm-Trakt vorbei“, d. h. beispielsweise durch direkte Injektion in den Blutkreislauf.

¹⁸ Kolloidale Stabilität bedeutet, dass kolloidale Teilchen in einer Lösung nicht aggregieren oder absinken, sondern gleichmäßig verteilt bleiben.

¹⁹ „Deacetylierung“ bezeichnet die Abspaltung einer Acetylgruppe.

zu sehr guter Komplexierung und zellulärer Aufnahme z. B. von DNA. Eine unzureichende endosomale Freisetzung und insgesamt niedrige Transfektionseffizienz limitieren jedoch die Anwendung von PLL ohne weitergehende chemische Modifikationen, die allerdings möglich sind und intensiv untersucht werden.

Gleichfalls wurde eine Reihe von Peptiden entwickelt, die bestimmte Sequenzen aufweisen, die erhöhte zelluläre Aufnahme oder ein zelluläres Targeting vermitteln. Hierzu gehören die sog. CPP („cell penetrating peptides“). TAT, das erste entdeckte CPP, ist ein Bestandteil des HIV-1-Virus. Durch kovalente oder nicht kovalente Kopplung²⁰ einer Nukleinsäure an ein CPP entstehen stabile Transportkomplexe, die eine effiziente zelluläre Aufnahme vermitteln; jedoch müssen mögliche toxische Effekte jeweils berücksichtigt und gut untersucht werden. Auch eine Kombination polymerer Nanopartikel mit den oben erwähnten Exosomen kann im Sinne einer effizienteren und spezifischeren Aufnahme in die gewünschten Zielzellen vorteilhaft sein. Dies wurde z. B. im Fall von PEI-basierten Komplexen untersucht, die gezielt mit Exosomen bzw. extrazellulären Vesikeln (ECVs) modifiziert wurden (Zhupanyn et al. 2020).

Polypeptide können auch zu komplexeren dreidimensionalen Strukturen (Dendrimern) ausgebaut werden, die durch hochdefinierte molekulare Strukturen und präzise kontrollierbare Chemie gekennzeichnet sind. Auch hier können schnelle Ausscheidung über das retikuloendotheliale System, Toxizität, niedrige Transfektionseffizienz und schlechte Freisetzungseigenschaften für die Nukleinsäure jedoch Limitationen darstellen. Verschiedene chemische Modifikationen sowie die Oberflächenmodifikation durch Bindung von Liganden haben zu Verbesserungen geführt. Beispiele sind PAMAM (Polyamidoamin)- oder PPI (Polypropylenimin)-Dendrimere. Letztere konnten beispielsweise durch eine chemische Kopplung der Aminosäure Tyrosin so verbessert werden, dass sie auch bei schwer transfizierbaren Zellen hohe Effizienz zeigen.

6.5 Anorganische Nanocarrier

Anorganische Nanopartikel sind häufig stabiler und noch weniger immunogen als die oben beschriebenen, auf organischen Komponenten basierenden Systeme, haben sehr definierte chemische Eigenschaften, können vergleichsweise leicht synthetisiert und modifiziert werden und werden gleichfalls seit langer Zeit intensiv untersucht. Die erste DNA-Einschleusung in Zellen wurde vor über 60 Jahren beschrieben (Szybalska und Szybalski 1962). Ein früherer Ansatz basierte auf der Calciumphosphatmethode, d. h. der chemischen Fällung von DNA mit einem Calciumsalz unter Ausbildung eines Niederschlags, der aus Nanopartikeln besteht, die von Zellen aufgenommen werden können. Auch hier wurden verschiedene chemische Modifikationen bzw. Zusätze untersucht, um die entstehenden, calciumbasierten Nanopartikel im Hinblick auf Effizienz, Biokompatibilität und andere Eigenschaften zu optimieren.

²⁰ Eine kovalente Kopplung ist eine starke und dauerhafte chemische Bindung der Moleküle, eine nicht kovalente Bindung ist eine schwächere, temporäre Wechselwirkung zwischen den Molekülen.

Andere Vertreter aus der Gruppe der anorganischen Nanocarrier entstehen nicht erst bei der Kombination mit der entsprechenden Nukleinsäure, sondern liegen vielmehr bereits als Nanopartikel vor, bei denen sich dann die Nukleinsäure an deren Oberfläche anlagern bzw. in Poren aufgenommen werden kann. Wichtige Beispiele sind silicabasierte Systeme wie sog. mesoporöse Silicananopartikel oder verschiedene Nanopartikel aus einem Metall bzw. Metalloxid. Mesoporöse Silicananopartikel werden aufgrund ihrer großen Beladungs-kapazität, großen Oberfläche, guten chemischen Modifizierbarkeit und geringen Toxizität für die Einschleusung diverser Biomoleküle oder Wirkstoffe eingesetzt. Dies schließt auch Nukleinsäuren ein. Allerdings bestehen Limitation bzgl. der Aufnahme in die Zellen und der intrazellulären Freisetzung aus dem endosomal-lysosomalen System, sodass auch hier gewöhnlich Oberflächenmodifikationen mit kationischen Polymeren oder Lipiden notwendig sind. Gleichfalls führt die positive Oberflächenladung zu einer geringeren Serumstabilität, erhöhten Toxizität und schnellen Aufnahme in das retikuloendotheliale System, was die therapeutische Effizienz reduzieren und eine Oberflächenmodifikation erfordern kann.

Goldnanopartikel (AuNPs) zeigen besonders geringe Toxizität und Immunogenität; ferner besitzen sie günstige physikochemische Oberflächeneigenschaften inklusive einer gut etablierten Oberflächenmodifizierbarkeit, die Funktionalisierungen zur „targeted delivery“, zur Effizienzsteigerung und zur Stabilitätserhöhung gestatten.

Magnetische Nanopartikel werden neben zahlreichen anderen Verwendungen auch als Nanocarrier für die Einschleusung genetischen Materials eingesetzt. Durch externe Magnetfelder kann hier eine Anreicherung in spezifischen Organen oder Geweben wie z. B. Tumoren erreicht werden, mit dadurch erhöhter Effizienz am Wirkort bei gleichzeitig weniger Nebenwirkungen an anderen Stellen im Körper (Scherer et al. 2002). Auch können so ggf. Dosierungen reduziert werden und die Markierung eines Tumors durch Anreicherung des Nanopartikels im Tumorgewebe wird möglich. Wiederum wurden weitergehende Modifikationen wie beispielsweise mit PEI untersucht. Auch anorganische Nanocarrier können also mit Lipid- oder Polymerkomponenten kombiniert werden, was die positiven Eigenschaften der verschiedenen Komponenten kombinieren soll.

Nanocarrier müssen hierbei jedoch nicht unbedingt als Nanopartikel, d. h. mit Abmessungen, die in allen drei Dimensionen im Nanometerbereich sind, vorliegen. So stellen sog. Carbonnanoröhren („carbon nanotubes“), die in der 3. Dimension bis in den zweistelligen Mikrometerbereich gehen können, gleichfalls attraktive Systeme dar. In diesem Fall wird das Eindringen des Nanocarriers und damit der Nukleinsäure in die Zelle durch Mechanismen herbeigeführt, die unabhängig von der oben beschriebenen Endozytose sind. Beispielsweise wurden SWCNs („single walled carbon nanotubes“) zur Einschleusung einer siRNA zur Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen verwendet. Allerdings sind solche Systeme nicht wasserlöslich oder biodegradierbar, und sie zeigen abhängig von ihrer Struktur eine höhere Toxizität und Immunogenität. Daher wurden auch hier kovalente oder nicht kovalente Modifizierungen sowie Oberflächenfunktionalisierungen eingeführt.

6.6 Schlussbemerkungen

Nichtvirale Vektorsysteme haben nicht zuletzt durch die Entwicklung neuer RNA-, DNA- und zellbasierter Therapien einen deutlichen Aufschwung erfahren. Auch wenn sie zum Teil natürlichen Systemen wie z. B. Viren nachempfunden sind und weiterhin mit viralem Gentransfer in Konkurrenz stehen, zeigen sie, gerade durch erhebliche Weiterentwicklungen in den letzten Jahren, interessante Eigenschaften und Vorteile. Die Bandbreite der Möglichkeiten, durch chemische Modifizierungen und Kombination einzelner Komponenten zu neuen Nanocarriern mit definierten Eigenschaften zu kommen, wurde oben anhand der verschiedenen Gruppen und diverser Beispiele aufgezeigt. Die Komponenten der oben beschriebenen Nanocarrier lassen dabei sehr vielfältige Kombinationen unter Bildung hybrider Vektorsysteme zu. Diverse Beispiele wurden und werden hier untersucht. Ziel ist hierbei, die jeweils positiven Eigenschaften der verschiedenen Komponenten zu nutzen und sinnvoll zu kombinieren. Neben diesen Materialeigenschaften der Nanocarrier beeinflussen auch deren Präparationsmethode und speziell die Beladung mit der gewünschten Nukleinsäure, d. h. ob diese an den Nanopartikel adsorbiert oder im Nanopartikel eingeschlossen ist, die Eigenschaften des Nanopartikels.

Trotz dieser erheblichen Forschungsanstrengungen und damit verbundenen substanziellen Weiterentwicklungen von verschiedenen Nanocarriern ist die Zahl der Kandidaten, die tatsächlich in eine klinische Translation gelangt sind oder in klinischen Studien getestet werden, weiterhin überschaubar. Dies liegt sicher auch an der oben angesprochenen Lücke zwischen einer Entwicklung und In-vitro-Testung auf der einen Seite und der tatsächlichen Performance in einer relevanteren In-vivo-Umgebung auf der anderen Seite. So erfüllen viele Nanocarrier bzgl. Effizienz und Verträglichkeit (Biokompatibilität) trotz vielversprechender Daten aus der Zellkultur nicht die notwendigen Anforderungen. Gleichfalls sind zwar sehr komplizierte Mehrkomponentensysteme sicherlich von wissenschaftlichem Interesse; diese Komplexität erweist sich jedoch bei ihrer Translation im Hinblick auf Zulassung, Upscaling, Chargenstabilität, GMP-Herstellung und Analytik als hinderlich.

Die Effizienz auf nichtviralen Nanopartikeln beruhender Nukleinsäuretherapeutika kann aber auch durch zusätzliche Behandlungsmethoden günstig beeinflusst werden. Hier sind physikalische Methoden (photothermale Therapie, PTT; photodynamische Therapie, PDT) ebenso zu nennen wie zusätzliche pharmakologische Interventionen, z. B. in der Krebstherapie (Chemotherapie, Immuntherapie). Die Effizienz einer nukleinsäurebasierten Therapie sollte daher auch im Kontext möglicher Kombinationen mit anderen therapeutischen Interventionen gesehen werden, zur Ausnutzung möglicher additiver oder sogar synergistischer Effekte. Dies gilt beispielsweise für die Kombination mit etablierten Zytostatika in der Chemotherapie, wobei dies auch die gleichzeitige Verpackung der Nukleinsäure und des Zytostatikums in einem Nanopartikel einschließen kann. Es entsteht so ein (Nanopartikel-)Präparat mit zwei aktiven Wirkstoffen, basierend auf unterschiedlichen Stoffklassen und Wirkweisen. Nicht zuletzt auch daran wird die große Bandbreite der Möglichkeiten zur Nutzung nichtviraler Vektoren deutlich.

Literatur

- Adams D et al (2018) Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med* 379(1):11–21
- Akinc A et al (2008) A combinatorial library of lipid-like materials for delivery of RNAi therapeutics. *Nat Biotechnol* 26(5):561–569
- Behlke MA (2008) Chemical modification of siRNAs for in vivo use. *Oligonucleotides* 18(4):305–319
- Behr JP (1997) The proton sponge: a trick to enter cells the viruses did not exploit. *Chimia* 51:34–36
- Berger S et al (2021) Optimizing pDNA Lipo-polyplexes: a balancing act between stability and cargo release. *Biomacromolecules* 22(3):1282–1296
- Cedillo I et al (2017) Synthesis of 5'-GalNAc-conjugated oligonucleotides: a comparison of solid and solution-phase conjugation strategies. *Molecules* 22(8):1356
- Cheng Q et al (2020) Selective organ targeting (SORT) nanoparticles for tissue-specific mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing. *Nat Nanotechnol* 15(4):313–320
- Deamer DW (2010) From „banghasomes“ to liposomes: a memoir of Alec Bangham, 1921–2010. *Faseb J* 24(5):1308–1310
- Fehse B et al (Hrsg) (2022) Im Fokus: RNA. Eine aktuelle Bestandsaufnahme der Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht. BIH, Berlin. Unter: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/37118>. Zugegriffen am 08.03.2023
- Felgner PL et al (1987) Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc Natl Acad Sci USA* 84(21):7413–7417
- Friedrich M, Aigner A (2022) Therapeutic siRNA State-of-the-art and future perspectives. *Bio-Drugs* 36(5):549–571
- Hammond SM et al (2021) Delivery of oligonucleotide-based therapeutics: challenges and opportunities. *EMBO Mol Med* 13(4):e13243
- Jackson LA et al (2020) An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – preliminary report. *N Engl J Med* 383(20):1920–1931
- Jiang Y et al (2022) Recent advances in nanotechnology approaches for non-viral gene therapy. *Biomater Sci* 10(24):6862–6892
- Kanasty R et al (2013) Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nat Mater* 12(11):967–977
- Kavand A et al (2020) Synthesis and functionalization of hyperbranched polymers for targeted drug delivery. *J Control Release* 321:285–311
- Knop K et al (2010) Poly(ethylene glycol) in drug delivery: pros and cons as well as potential alternatives. *Angew Chem Int Ed Engl* 49(36):6288–6308
- Mashel TV et al (2020) Overcoming the delivery problem for therapeutic genome editing: Current status and perspective of non-viral methods. *Biomaterials* 258:120282
- Petros RA, DeSimone JM (2010) Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov* 9(8):615–627
- Rosenblum D et al (2020) CRISPR-Cas9 genome editing using targeted lipid nanoparticles for cancer therapy. *Sci Adv* 6(47):eabc9450
- Sato Y et al (2012) A pH-sensitive cationic lipid facilitates the delivery of liposomal siRNA and gene silencing activity in vitro and in vivo. *J Control Release* 163(3):267–276
- Scherer F et al (2002) Magnetofection: enhancing and targeting gene delivery by magnetic force in vitro and in vivo. *Gene Ther* 9(2):102–109
- Schulz-Siegmund M, Aigner A (2021): Nucleic acid delivery with extracellular vesicles. *Adv Drug Deliv Rev* 173:89–111.
- Sessa G, Weissmann G (1968) Phospholipid spherules (liposomes) as a model for biological membranes. *J Lipid Res* 9(3): 310–318
- Szybalska EH, Szybalski W (1962) Genetics of human cell line. IV. DNA-mediated heritable transformation of a biochemical trait. *Proc Natl Acad Sci USA* 48(12):2026–2034

- Tenzer S et al (2013) Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology. *Nat Nanotechnol* 8(10):772–781
- Viola JR et al (2010) Non-viral nanovectors for gene delivery: factors that govern successful therapeutics. *Expert Opin Drug Deliv* 7(6):721–735
- Walsh EE et al (2020) Safety and immunogenicity of two mRNA-based COVID-19 vaccine candidates. *N Engl J Med* 383(25):2439–2450
- Wicki A et al (2015) Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. *J Control Release* 200:138–157
- Zhupanyn P et al (2020) Extracellular vesicle (ECV)-modified polyethylenimine (PEI) complexes for enhanced siRNA delivery in vitro and in vivo. *J Control Release* 319:63–76
- Zu H, Gao D (2021) Non-viral vectors in gene therapy recent development, challenges, and prospects. *Aaps J* 23(4):78

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Genome-Editing – Gentherapie 2.0 oder nur eine Wunschvorstellung?

7

Boris Fehse, Julian Grünewald und Karl Petri

7.1 Entwicklung des Genome-Editing

7.1.1 Gentherapie 1.0: Genaddition statt Genkorrektur

Die Idee, vererbare Krankheiten durch eine Korrektur der ihnen zugrunde liegenden genetischen Defekte zu behandeln oder ihren Ausbruch im Idealfall sogar zu verhindern, wurde seit Beginn der 1960er-Jahre diskutiert, u. a. in Arbeiten der beiden Nobelpreisträger¹ Joshua Lederberg (Lederberg 1966) und Edward Tatum (Tatum 1966). Beide erwogen potenzielle Vor- und Nachteile sowohl der Keimbahnkorrektur als auch einer somatischen Gentherapie,² also der Behandlung betroffener Körperzellen. Dabei gingen sie von der Vision einer exakten Korrektur der fehlerhaften Erbinformation aus – ein Ansatz, der später als Genomchirurgie bezeichnet wurde, während man heute eher von Genome-Editing spricht. Auch wenn es sich angesichts des Fehlens der technischen Möglichkeiten ihrer Um-

¹ Beide hatten den Nobelpreis 1958 zusammen mit George Beadle für grundlegende Arbeiten zum Verständnis molekulargenetischer Prozesse bekommen.

² Die somatische Gentherapie zielt (im Gegensatz zur „Keimbahntherapie“) auf die Modifikation von Körperzellen.

B. Fehse (✉)

Forschungsabteilung Zell- und Gentherapie, Klinik für Stammzelltransplantation, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg, Deutschland
e-mail: fehse@uke.de

J. Grünewald

Technische Universität München, München, Deutschland

K. Petri

Universitätsklinikum Würzburg, Würzburg, Deutschland

setzung³ zunächst tatsächlich eher um eine theoretische Vision handelte, die nicht zuletzt aus philosophischer Sicht diskutiert wurde, war den Protagonisten bereits bewusst, dass sich durch die (schon damals rasante) Entwicklung der Molekularbiologie relativ bald die Möglichkeit ergeben würde, Gene gezielt zu modifizieren.

Allerdings dürfte wohl keiner von ihnen erwartet haben, dass es bereits im März 1970 zu einem ersten Versuch einer Gentherapie kommen würde, und noch dazu in Köln in Deutschland.⁴ Dort unternahm der Pädiater Heinz Terheggen einen wagemutigen Versuch – er infizierte drei schwerstkranke Kinder, bei denen er einen genetisch bedingten Stoffwechseldefekt⁵ diagnostiziert hatte, mit einem Virus, das das bei den Kindern fehlende Enzym produzieren sollte. Der amerikanische Biochemiker Stanfield Rogers hatte ihn darauf aufmerksam gemacht, dass das Shope-Papillom-Virus⁶ über eine eigene Variante des bei den Kindern defekten Gens verfügt. Rogers hatte beobachtet, dass das virale Enzym in infizierten Kaninchen aktiv ist.⁷ Zudem hatten sich bereits mehrere Labormitarbeiter mit dem Virus infiziert, ohne dass Krankheitssymptome aufgetreten waren, sodass das Risiko für die Kinder als gering eingeschätzt wurde. Das Therapieexperiment misslang – es kam nicht zu einer Besserung des Zustandes der Kinder (Terheggen et al. 1975), was kaum verwundern kann, da das Immunsystem der Kinder die Viren bestimmungsgerecht als Bedrohung wahrgenommen und eliminiert hat.

Auch wenn der Heilversuch weder einen therapeutischen Nutzen noch einen signifikanten Informationsgewinn brachte (Friedmann 1992), konnte ein solches selbst aus damaliger Sicht verfrühtes Vorgehen nicht ohne Konsequenzen bleiben. Tatsächlich kam es in der Folge zu einer breiten Diskussion von Chancen und Risiken der Gentherapie (Anderson 1972; Freese 1972; Friedmann und Roblin 1972). Die Frage gewann durch das Aufkommen der rekombinanten DNA-Technologie an Brisanz, sodass ein freiwilliges internationales Moratorium zu deren Nutzung verkündet wurde, das erst 1975 nach der bekannten Asilomar-Konferenz aufgehoben wurde (Fredrickson 1991). In der Folge wurden strenge Richtlinien für die Nutzung rekombinanter DNA sowie nationale Regulierungsbehörden wie z. B. das Recombinant DNA Advisory Committee (RAC) des National Institute of Health (NIH) in den USA etabliert.⁸

³Mitte der 1960er-Jahre existierte weder die Technologie der rekombinanten DNA noch die Möglichkeit, die Abfolge der Erbinformation durch Sequenzierung auszulesen. Die Funktion von Genen bzw. der durch sie codierten Proteine konnte nur biochemisch bestimmt werden.

⁴Siehe unter: www.spiegel.de/spiegel/print/d-44418151.html [20.05.2023].

⁵Die Kinder litten unter einer Hyperarginämie infolge eines defekten Arginase-Gens. Heute ist die Krankheit durch Medikamente und eine spezielle Diät gut behandelbar.

⁶Das Shope-Papillom-Virus ist ein Virus, das bei Kaninchen Warzen auslöst.

⁷Später konnte er auch zeigen, dass die virale Arginase die fehlende Enzymaktivität in Gewebekulturen der Patienten ersetzen kann (Rogers et al. 1973).

⁸Ausführlicher zur Geschichte der Gentherapie: Friedmann 1992; Fehse et al. 2011.

Bei all seiner Fragwürdigkeit nutzte der Versuch von Terheggen und Kollegen schon 1970 einen Ansatz, der für Jahrzehnte das Grundprinzip der Gentherapie darstellen sollte. Da ihnen wie auch den nachfolgenden Generationen von Gentherapieforschern die Werkzeuge fehlten, um defekte Gene in lebenden Zellen tatsächlich zu korrigieren, griff man auf eine deutlich einfachere Alternative zurück: Man suchte nach Wegen, „gesunde Gene“ zu isolieren und diese in die Zellen einzubringen. Damit entfernte man sich zwar von der Vision, das Übel an seiner Wurzel zu packen und das Genom tatsächlich zu reparieren, eröffnete der Gentherapie zugleich aber völlig neue Anwendungsgebiete. Während die ursprüngliche Idee der Genkorrektur auf die Behandlung von (i. d. R. monogenen) Erbkrankheiten abzielte, kann der Ansatz der Genaddition deutlich mehr – z. B. können Zellen mit dort zuvor nicht vorhandenen Genen ausgestattet werden, die ihnen neue Funktionen und Fähigkeiten vermitteln. Dies mag auf den ersten Blick absurd erscheinen, führte aber mit der systematischen präklinischen (in den 1980er-Jahren) und klinischen (ab 1989) Entwicklung der Gentherapie sehr schnell dazu, dass Krebserkrankungen zur wichtigsten Indikation dieser neuen Therapieform wurden und bis heute blieben.⁹ Ein sehr anschauliches Beispiel für das genannte Prinzip stellen die CAR-T-Zellen (siehe Harrer/Abken, Kap. 10) dar – hier werden Immunzellen mit speziell konstruierten, in der Natur nicht vorkommenden Rezeptoren ausgestattet, damit sie Tumorzellen besser erkennen und zerstören können. Tatsächlich beruhen alle bis zum heutigen Tag zugelassenen Gentherapien (siehe auch Einleitung, Kap. 2) darauf, dass Gene nicht repariert, sondern durch mithilfe geeigneter Vektoren (siehe Kap. 3, 4, 5, 6) eingebrachte, zusätzliche Kopien funktionell ersetzt werden.¹⁰ Das Genome-Editing galt für viele Jahre als „heiliger Gral“ der Gentherapie – ein hehres, aber doch eher nicht erreichbares Ziel.

7.1.2 Genome-Editing: Aller Anfang war schwer

Aufbauend auf dem rapiden Fortschritt der Technik der rekombinanten DNA in den 1970er- und 1980er-Jahren wurden bald auch Methoden zum Einbringen zusätzlicher Gene in lebende Zellen (zunächst vor allem mithilfe viraler Vektoren, siehe Kap. 3 und 4) entwickelt und permanent optimiert. Wie aber sollte es gelingen, das in den einzelnen Zellen gut geschützte Genom zu editieren? Der nächstliegende Weg bestand darin, Mechanismen der DNA-Modifikation zu nutzen, die sowieso schon innerhalb der Zelle existieren. Unsere Zellen verfügen nämlich gleich über mehrere Reparatursysteme, um mögliche DNA-Schädigungen schnell und effizient zu korrigieren. Tatsächlich sind solche Schäden nicht etwa selten, sondern passieren ständig. So kommt es bei der Verdopplung der DNA im Zuge einer Zellteilung

⁹ Schon seit den 1990er-Jahren werden ca. zwei Drittel aller klinischen Gentherapiestudien im Feld der Onkologie (Krebsmedizin) durchgeführt (siehe unter: <https://a873679.fmphost.com/fmi/webd/GTCT> [26.10.2023]).

¹⁰ Einen Sonderfall stellen die sog. onkolytischen Viren dar – genetisch modifizierte Viren, die sich ausschließlich in Krebszellen vermehren und diese dadurch zerstören („lysieren“).

immer Mal wieder vor, dass ein falscher DNA-Baustein eingebaut wird. Dies wird dann durch entsprechende Sensoren in der Zelle erkannt und das falsche Nukleotid wird über spezielle Reparaturenzyme wieder ausgetauscht. Sehr häufig – z. B. in Hautzellen durch die energiereiche UV-Strahlung beim Sonnenbaden – kommt es zu Brüchen des DNA-Doppelstrangs. Solche Doppelstrangbrüche (DSB) müssen sofort repariert werden, da sie nicht mit einem Weiterleben der betroffenen Zelle vereinbar sind. Auch hierfür existieren in den Zellen spezielle Prozesse, die sich in homologe und nicht homologe Reparaturmechanismen unterteilen lassen.¹¹ Die sog. homologe Rekombination (HR/HDR)¹² wurde bereits in den 1940er-Jahren in Bakterien entdeckt. Ende der 1970er-Jahre gelang es, diesen Mechanismus zu nutzen, um Gene in Hefezellen auszutauschen, in den 1980er-Jahren dann auch zur gezielten Modifikation von Säugerzellgenomen.¹³ Für eine klinische Anwendung waren die erreichten Effizienzen jedoch bei Weitem zu niedrig. Zudem funktionierte die („spontane“) HR/HDR am ehesten in embryonalen Zellen, was einer Anwendung beim Menschen aus einer Vielzahl von Gründen im Wege stand (zu rechtlichen und ethischen Fragen der genetischen Modifikation von Keimbahnzellen siehe Kap. 17 und 18). So schien es zunächst, als bliebe das Potenzial des Genome-Editing eher der Grundlagenforschung vorbehalten.

Um das Genome-Editing auch für die somatische Gentherapie klinisch nutzbar zu machen, mussten Wege gefunden werden, die Veränderungen im Genom gleichzeitig in einer sehr großen Zahl von Zellen vornehmen zu können.¹⁴ Dazu sollte ein Trick helfen – statt auf spontane Reparaturprozesse in den Zellen zu warten, sollten diese gezielt z. B. durch die Induktion eines DSB mithilfe DNA-schneidender Enzyme (Nukleasen) genau an der zu reparierenden Stelle induziert werden (Rouet et al. 1994). Das Prinzip der sequenzspezifischen Induktion von DSB hatte man sich von der Natur abgeschaut – Bakterien z. B. verteidigen sich gegen Eindringlinge (z. B. Bakteriophagen)¹⁵ mithilfe sog. Restriktionsenzyme – Nukleasen, die Sequenzen in den Phagen erkennen und deren Genom dort zerschneiden. Das erste Ziel auf dem Weg zum gezielten Genome-Editing bestand also darin, solche

¹¹ Ausführlich in: Fehse und Abramowski-Mock 2021: 17 ff.

¹² Bei der HR findet ein Austausch größerer Genbereiche zwischen zwei DNA-Doppelsträngen über eine Art Copy-paste-Prozess statt. Es war genau diese Entdeckung, für die der schon oben zitierte Joshua Lederberg 1958 den Nobelpreis erhielt. Wenn HR für das Genome-Editing genutzt wird, spricht man oft auch von „homology-directed repair“ (Homologie-vermittelter Reparatur) bzw. HDR (siehe unten).

¹³ Die Nutzung der HR/HDR in embryonalen Stammzellen von Mäusen bildete die Grundlage für die Generierung sog. Knockout- oder auch transgener Mäuse, die zu einem wichtigen Element der biomedizinischen Forschung wurden. Im Jahr 2007 erhielten Mario R. Capecchi, Martin J. Evans und Oliver Smithies den Nobelpreis für die Entwicklung von „Prinzipien zur Einführung spezifischer Genmodifikationen in Mäuse mithilfe embryonaler Stammzellen“.

¹⁴ Zum Beispiel besteht eine menschliche Leber aus vielen Hundert Milliarden Zellen. Das bedeutet, dass das Genome-Editing in mehreren Milliarden Zellen erfolgreich sein müsste, um einen Defekt in auch nur 1 % der Leberzellen zu korrigieren.

¹⁵ Bakteriophagen sind Viren, die Bakterien infizieren.

sequenzspezifischen Nukleasen zu entwickeln.¹⁶ Die Möglichkeit dazu eröffnete sich mit der Entdeckung der sog. Zinkfingerproteine Mitte der 1980er-Jahre. Diese Proteine haben ihren Namen von je ein Zink-Ion enthaltenden, fingerähnlichen Strukturen, die eine sequenzspezifische DNA-Bindung vermitteln und dadurch verschiedene wichtige Prozesse der Genregulation, wie das Ablesen der mRNA, steuern. Jeder Zinkfinger bindet spezifisch an drei Nukleotide – um eine ausreichende Spezifität zu erlangen, müssen mehrere Zinkfinger hintereinandergeschaltet und dann mit einer halben Nuklease gekoppelt werden (ein Arm der Zinkfingernuklease, ZFN). Erst wenn beide Arme der ZFN unmittelbar nebeneinander binden, entsteht aus den beiden Hälften des Enzyms eine funktionelle Nuklease und der DSB wird induziert (siehe Abb. 7.1a). Die erste ZFN wurde 1996 publiziert (Kim et al. 1996). Da mit neu entwickelten Zinkfingern nahezu jede Zielsequenz angesteuert werden konnte, stellten die ZFN tatsächlich die ersten für fast das gesamte Genom nutzbaren Designernukleasen dar.¹⁷ Allerdings war ihre Herstellung sehr aufwendig und teuer, sodass sie nur eine eingeschränkte Verbreitung in wenigen spezialisierten Laboren erfuhren. Nichtsdestotrotz basierte auf einer ZFN die allererste klinische Genome-Editing-Studie (siehe Abschn. 7.4).

Knapp 15 Jahre später wurde eine noch modularere Version von Designernukleasen, die TAL-Effektornukleasen (TALEN), entwickelt (siehe Abb. 7.1a). Auch die TALEN basierten auf natürlich vorkommenden, aus Bakterien isolierten DNA-bindenden Proteinen.¹⁸ Letztere verfügen über in Reihe geschaltete Module, von denen jedes einzelne ein Nukleotid bindet – es handelt sich also um einen 1-zu-1-Code.¹⁹ TALEN gewährleisteten nicht nur eine höhere Genauigkeit bei der DNA-Bindung, auch ihre Herstellung war deutlich einfacher. Damit schaffte es das Genome-Editing zu einer weltweiten Verbreitung, sodass Designernukleasen im Jahr 2011 vom renommierten Wissenschaftsjournal *Nature Methods* zur „Method of the Year“ (Methode des Jahres) gekürt wurde.

Den tatsächlichen Durchbruch für das Genome-Editing brachte jedoch erst ein bakterielles adaptives (lernendes) Immunsystem – CRISPR/Cas²⁰. Entdeckt hatte eine japanische Gruppe CRISPR-Sequenzen schon 1987 (Ishino et al. 1987), aber erst die Analyse seiner Funktionsweise (Mojica et al. 2005; Barrangou et al. 2007) und schließlich die Entdeckung, dass sich die Grundkomponenten des Systems dazu nutzen lassen, DNA in lebenden Säugerzellen gezielt zu zerschneiden (Cong et al. 2013), etablierten eine völlig neue Art von Designernuklease (siehe Abb. 7.1a).

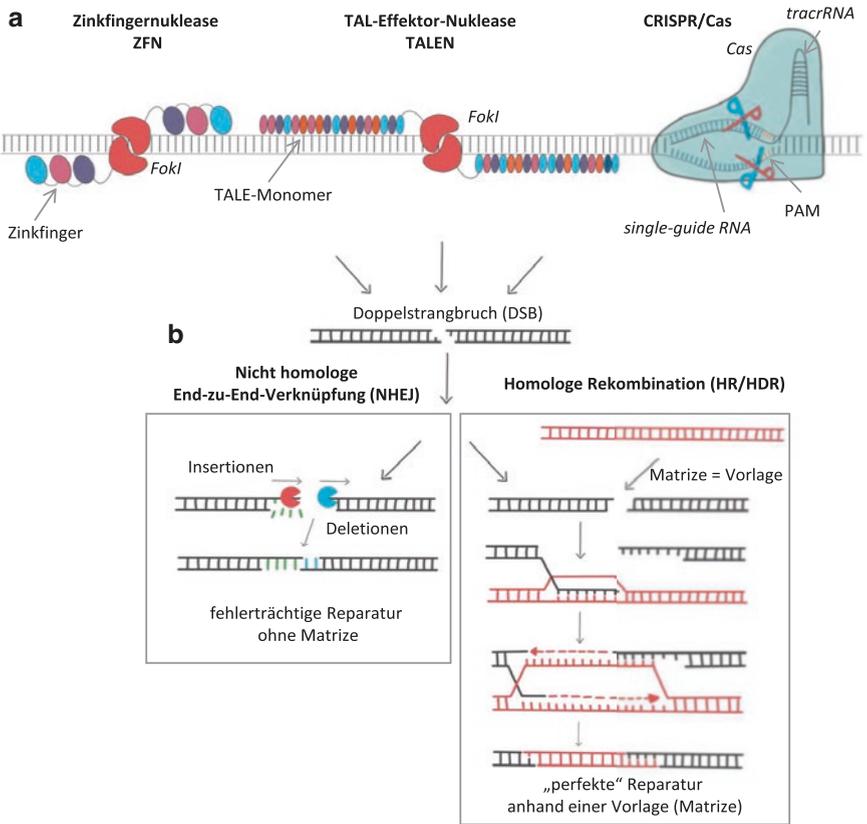
¹⁶Da es sich um künstlich hergestellte Enzyme handelt, spricht man oft auch von Designernukleasen. Aufgrund ihrer Funktion (DNA zu zerschneiden) haben sich zudem Begriffe wie Genschere (oder sogar -skalpell) eingebürgert (siehe auch Rheinberger, Kap. 21).

¹⁷Ausführlich zur Geschichte von ZFN, TALEN und CRISPR/Cas in: Fehse und Abramowski-Mock 2021.

¹⁸„Transcription activator-like effector proteins“ bzw. TAL-Effektoren.

¹⁹Der Code wurde 2009 parallel durch eine deutsche (Boch et al. 2009) und eine amerikanische Arbeitsgruppe (Moscou und Bogdanove 2009) geknackt, was die nachfolgende Entwicklung der TALEN ermöglichte.

²⁰CRISPR: Clustered regularly interspaced short palindromic repeats, Cas: CRISPR-associated. Zur Geschichte des CRISPR/Cas-Systems siehe Lander 2016.



Der entscheidende Unterschied der CRISPR-basierten Systeme gegenüber ZFN und TALEN besteht darin, dass die Erkennung der Zielsequenz über eine kurze guide-RNA (Leit-RNA, oder kurz gRNA) erfolgt, während die Nuklease (Cas9) immer gleich bleibt (Gasiunas et al. 2012; Jinek et al. 2012).²¹ Statt jedes Mal ein neues Protein designen zu müssen, muss das Cas-Protein also nur mit einer einfach herzustellenden RNA ausgestattet werden, was die Herstellung von Wochen oder gar Monaten auf wenige Tage verkürzt und die Kosten überschaubar macht. Dies bietet eine Reihe relevanter Vorteile – z. B. lassen sich parallel gleich mehrere Designernukleasen herstellen und testen, sodass einzelne „Versager“ kein Problem darstellen. Auch können beide Elemente des Systems (die gRNA und das Cas-Protein) in vielfacher Weise modifiziert und getestet werden, um optimale Konfigurationen zu finden. Basierend darauf gibt es heute „High-Fidelity“-Varianten von Cas9, die deutlich seltener falsche Zielsequenzen erkennen, als dies mit dem ursprünglich aus Bakterien isolierten Protein der Fall war. Auch konnten mittlerweile tausende neue CRISPR/Cas-Nukleasen jenseits von Cas9 entdeckt werden, die oft-



Abb. 7.1 Technische Grundlagen des Genome-Editing

(a) Designernukleasen/Genschere: Designernukleasen bestehen zumeist aus zwei Komponenten: 1) (mindestens) einer DNA-Bindungsdomäne, die die Spezifität der Designernuklease für die Erkennungssequenz definiert und 2) einer Nukleasedomäne, die an der Erkennungssequenz einen Doppelstrangbruch setzt („schneidet“). Dargestellt sind die drei gebräuchlichsten Genschere. Links: Zinkfinger-nukleasen (ZFN). Einzelne Zinkfinger (ZF) erkennen 3 Nukleotide. Durch das Koppeln einzelner ZF wird eine längere Erkennungssequenz bestimmt. Den eigentlichen Doppelstrangbruch („Schnitt“) setzt die Nuklease (z. B. FokI). Diese wird nur bei einer Dimerisierung aktiv, d. h. wenn zwei Nukleasehälften aneinander binden. Bei TAL-Effektor-Nukleasen (TALEN, Mitte) erfolgt die Bindung der DNA über miteinander gekoppelte TALE-Monomere. Ein Monomer erkennt hierbei 1 Nukleotid. Der Schnitt erfolgt wie bei ZFN meist über eine FokI-Nuklease. Bei CRISPR/Cas (rechts), wird die Bindung der DNA über eine RNA („guide RNA“) vermittelt. Damit das CRISPR/Cas9-System an die genomische DNA bindet, benötigt es direkt neben der Erkennungssequenz eine sog. PAM-site („protospacer adjacent motif“, rot dargestellt). Der Doppelstrangbruch wird durch die Nuklease Cas9 induziert. (b) Zelluläre Reparaturmechanismen: Nach Einfügen des Doppelstrangbruchs werden die zellulären Reparaturmechanismen in Gang gesetzt. Die Reparatur kann z. B. entweder durch nicht homologe End-zu-End-Verknüpfung (NHEJ, links) erfolgen oder über die sog. Homologe Rekombination (HR/HDR, rechts). Beide Mechanismen sind hier nur sehr stark vereinfacht dargestellt. Beim fehlerhaften, aber schnelleren Weg des NHEJ werden die Enden miteinander „verklebt“, wobei an der Klebestelle einzelne Nukleotide hinzukommen („Insertionen“) oder verloren gehen („Deletionen“). Dies kann zu einem Funktionsverlust betroffener Gene („Knockout“) führen. Bei der HR/HDR verwendet die Zelle normalerweise das andere Chromosom als Reparaturvorlage (Matrize), um den betroffenen Bereich per Copy/Paste perfekt wiederherzustellen. Will man in die Schnittstelle gezielt z. B. ein neues Gen („Knockin“) oder einzelne Nukleotide einbauen, kann dies über eine mitgelieferte Matrize erfolgen. Damit der Copy-Paste-Mechanismus funktioniert, muss der einzubauende Bereich von sog. homologen Regionen flankiert werden, die perfekt mit der Zielregion übereinstimmen. Nachdruck aus Fehse/Abramowski-Mock 2021

²¹Die Entdeckung erfolgte zunächst im Labor von Virginijus Siksnys und kurze Zeit später durch Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier. Trotz seiner Priorität erhielt Siksnys, der aus dem wissenschaftlich weniger einflussreichen Litauen stammt, erst verspätet und deutlich weniger Anerkennung als Doudna und Charpentier.

mals auch in menschlichen Zellen funktionell sind. Damit erweitert sich das Arsenal an DNA-bindenden Proteinen und Genschere, die unterschiedliche Eigenschaften haben. Schließlich gelang es, die ursprünglichen Nukleasen mit anderen Proteinen zu koppeln und so dem CRISPR/Cas-System völlig neue Funktionen zu verleihen. Dies wird im folgenden Abschnitt dargestellt.

7.2 Genome-Editing 2.0

Während das RNA-vermittelte Ansteuern und Schneiden von DNA-Sequenzen mit CRISPR/Cas effizient möglich ist, stellt es dennoch eine Herausforderung dar, eine DNA-Sequenz präzise zu verändern. Dies liegt an den DNA-Reparaturmechanismen der Zelle (siehe Abb. 7.1b). Wie oben beschrieben, wäre HDR nach Einbringen eines DSB für eine präzise DNA-Editierung nötig. Hierfür wird zudem neben dem DSB noch eine DNA-Vorlage benötigt, die die veränderte Sequenz enthält, die an der Stelle des DSB eingebaut werden soll (siehe Abb. 7.1b). Nun ergeben sich aber drei Herausforderungen, wenn man HDR zur präzisen Editierung nutzen möchte. Erstens ist diese vergleichsweise aufwendige Form der DNA-Reparatur in vielen Zellen gar nicht aktiv bzw. effizient. Zweitens kann die doppelsträngige DNS-Vorlage Toxizität induzieren. Für die Korrektur kleinerer Abschnitte bringt man daher einzelsträngige DNA (sog. ssDNA), die deutlich weniger toxisch ist, als Matrize in die Zellen ein. Drittens kann der DSB, selbst in Zellen mit aktiver HDR, immer auch zur Entstehung von Mutationen an der Schnittstelle führen. Dies liegt daran, dass HDR mit einem anderen Reparaturprozess (NHEJ)²² konkurriert. NHEJ ist deutlich ungenauer – meist werden dabei Basen hinzugefügt oder herausgenommen, sodass sog. „Indels“ (Insertionen bzw. Deletionen) entstehen (siehe Abb. 7.1b). Oftmals kommt es durch diese Indels zu einer Verschiebung des Leserahmens, was man durchaus auch therapeutisch nutzen kann, um ein Gen auszuschalten. Allerdings ist diese Art von Mutationen nicht von Nutzen, wenn man ein Gen präzise editieren möchte (Wang und Doudna 2023; Anzalone et al. 2020).

Für präzise Modifikationen haben sich daher in den letzten 7 Jahren zwei weitere CRISPR-Methoden etabliert. Zunächst wurden 2016 Basen-Editoren (BEs) erstmals beschrieben. Hierbei handelt es sich um die Fusion einer Deaminase-Domäne²³ an ein Cas-Protein, das die DNA entweder gar nicht schneidet²⁴ oder nur einen der beiden DNA-Stränge schneidet (sog. Nickase). Auch hier wird das CRISPR-System genutzt, um mithilfe der gRNA ganz gezielt eine Stelle im Genom anzusteuern, woraufhin die DNA an jener Stelle aufgewickelt wird. Während der

²² NHEJ: „Non-homologous end joining“ (nicht homologe End-zu-End-Verknüpfung) – die durch den DSB entstandenen offenen Enden werden auf schnellstem Wege und unter Inkaufnahme kleiner Fehler wieder „zusammengeklebt“.

²³ Deaminasen schneiden Amin-Gruppen (Ammoniakderivate) von größeren organischen Molekülen ab, wodurch neue Moleküle (hier DNA-Bausteine bzw. Nukleotide) entstehen.

²⁴ Solche Varianten werden auch als „totes“ Enzym bezeichnet (z. B. „dead SpCas9“).

Zielstrang (target strand, oder kurz TS) der DNA an den Komplex aus gRNA und Cas-Protein gebunden ist, liegen Teile des zweiten DNA-Strangs (non-target strand, oder kurz NTS) nun frei (sog. „single-stranded DNA bubble“ oder „R-loop“). Diese freiliegenden Basen des NTS werden auf diese Weise der an das Cas-Protein gekoppelten Deaminase zugänglich gemacht. Man nutzt das CRISPR-System also letztlich, um ein zweites Protein mit einer spezifischen Funktion gezielt an eine bestimmte Stelle im Genom zu lenken. In der ersten Variante (Komor et al. 2016; Rees und Liu 2018) wurde hierzu eine Cytosindeaminase genutzt, die ein Cytosin in der DNA durch Abspaltung einer Aminogruppe zu einem Uracil deaminieren kann (siehe Fn. 24). Durch DNA-Reparaturprozesse, die teils ebenfalls gezielt beeinflusst werden können, resultiert aus der Deaminierung schließlich eine C-zu-T-Editierung, in der DNA-Sequenz steht jetzt also anstelle eines C ein T. Durch Nutzung anderer Deaminasen und/oder Modifikation der lokalen DNA-Reparaturprozesse wurden mittlerweile auch BEs entwickelt, die A zu G (Gaudelli et al. 2017), C zu G (Kurt et al. 2021) und A zu C (Chen et al. 2023) konvertieren können. Base-Editing funktioniert zuverlässig und ist relativ einfach zu nutzen, wenn man auf spezifische Eigenheiten achtet, wie das sog. Editing-Window. Hierbei handelt es sich um den Bereich des Nichtzielstrangs (NTS) der DNA, der für die Deaminase zugänglich ist. Nur hier kann Base-Editing stattfinden, allerdings variiert dieser Bereich je nach Cas-Protein, Deaminase und Fusionsarchitektur.

Trotz der Vielseitigkeit der BEs können nicht alle Punktmutationen durch diese Technologie realisiert werden. Zudem kann man nur einzelne Nukleotide verändern, aber keine komplexeren Editierungen vornehmen, z. B. Insertionen, Deletionen oder Kombinationen verschiedener Mutationsformen.

Um solche Edits zu ermöglichen, wurde eine weitere Klasse von Editoren entwickelt, die sog. Prime-Editoren (PEs) (Anzalone et al. 2019), die verschiedenste Arten von Mutationen einführen können. Auch die PEs basieren auf der Fusion eines weiteren Enzyms (einer reversen Transkriptase, RT) mit einem modifizierten Cas-Protein (einer Cas9-Nickase). Jedoch benötigt das Prime-Editing noch eine dritte Komponente – die „prime editing gRNA“ (pegRNA). Diese gRNA enthält zusätzliche Sequenzen am 3'-Ende, in die man die gewünschte Editierung einprogrammieren kann. Die gRNA führt hier also nicht nur das Cas-Protein zum Ziel, sondern dient nun auch gleichzeitig als Vorlage für die Editierung selbst. Ähnlich wie bei den BEs wird das CRISPR-System genutzt, um den Editierungsapparat an eine bestimmte Stelle im Genom zu leiten. Dort wird ein Strang der DNA geschnitten, an den das 3'-Ende der pegRNA bindet. Daraufhin schreibt die RT die im 3'-Ende der pegRNA codierte Sequenz in den NTS der Ziel-DNA (in den sog. 3'-flap). Wenn dieser veränderte DNA-Strang erfolgreich eingebaut wird, ist das Prime-Editing vollzogen (Anzalone et al. 2019). Die PE-Methode ist äußerst vielseitig und konnte mittlerweile auch auf die Einführung größerer Deletionen (Choi et al. 2022) und Insertionen (Yarnall et al. 2023; Anzalone et al. 2022) erweitert werden. Dies wurde ermöglicht durch die gleichzeitige Nutzung von zwei pegRNAs (sog. „dual-flap“-Ansatz) (Anzalone et al. 2022) und/oder den Einbau von Rekombinase-Erkennungsseiten durch PE, die dann im zweiten Schritt für die Inte-

gration von großen DNA-Cargos durch Rekombinasen²⁵ genutzt werden können. Letzteres ist ein hochkomplexes System, da es der zusätzlichen Anlieferung einer Rekombinase und einer DNA-Vorlage bedarf (Anzalone et al. 2019; Yarnall et al. 2023; Anzalone et al. 2022).

7.3 Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden im Hinblick auf eine klinische Anwendung

BEs sind oftmals sehr effizient, wenn das zu mutierende Zielnukleotid im richtigen Bereich des Editing-Windows liegt. Jedoch können alle in diesem Fenster liegenden Zielbasen, also Cytosine oder Adenine (je nach BE) deaminiert werden, womit man oftmals unerwünschte Mutationen direkt neben der Zielbase (sog. Bystander-Mutationen) erzeugt. Ähnlich wie Cas-Nukleasen können auch BEs gRNA-abhängige Off-Target-Mutationen erzeugen (Kim et al. 2017). Eine weitere Limitation von BEs sind gRNA-unabhängige Off-Target-Effekte, wenn die Deaminase unabhängig von dem Cas-Protein und der gRNA andere Stellen im Genom (DNA) oder in transkribierten RNAs deaminiert (Zuo et al. 2019; Grünewald et al. 2019). Um dies zu verhindern, wurden inzwischen zahlreiche optimierte Varianten entwickelt. Zudem wurde erkannt, dass die Stärke und Dauer der Expression hierbei eine Rolle spielt. So nutzt man in der klinischen Erprobung aktuell eine relativ kurze Expression der BEs mittels mRNA/gRNA-Kombinationen, die durch Elektroporation (ex vivo) oder LNPs (in vivo) in die Zellen angeliefert werden. All diese Fortschritte haben es ermöglicht, dass Base-Editing zum heutigen Stand schon in ersten klinischen Studien angewendet werden konnte (Chiesa et al. 2023).

Ein Nachteil der PEs ist die Komplexität des Systems und die höhere Variabilität der Effizienz, je nach der Stelle im Genom, die angesteuert wird. Allerdings wurden hier bereits Methoden entwickelt, um z. B. die pegRNA stabiler zu machen (Nelson et al. 2022) oder durch gleichzeitige Modifikation von DNA-Reparaturmechanismen (Chen et al. 2021). Bei den PEs wurden bisher keine relevanten gRNA-unabhängigen Off-Target-Effekte beobachtet. Konventionelle gRNA/Cas-abhängige Off-Target-Effekte sind oft weniger ausgeprägt, da für die Editierung an der „falschen“ Stelle nicht nur die sog. „Spacer-Sequenz“,²⁶ sondern auch das 3'-Ende „fehlgeleitet“ funktionieren müsste, was unwahrscheinlicher ist als eine reine Fehlbindung der gRNA über die Spacer-Sequenz und ein dadurch induzierter Doppelstrangbruch (siehe Abschn. 7.1.2).

²⁵Die hier genutzten Rekombinasen erkennen spezifische Zielsequenzen, die sie nutzen, um DNA-Bereiche aufzuschneiden und neu zu verknüpfen. Diese Zielsequenzen kommen natürlicherweise nicht im humanen Genom vor. Nachdem sie eingefügt wurden, können Sie entsprechend als Anker für die Integration neuer DNA-Abschnitte dienen.

²⁶Die Spacer-Sequenz ist die auf der gRNA einprogrammierte Sequenz, die die Cas-Nuklease oder den PE an die richtige Zielsequenz binden lässt.

Vergleicht man beide Systeme mit „klassischer“ Gentherapie, also z. B. lentiviraler Integration von Genen oder episomaler Expression von Genen via Adenoassoziierten Viren (AAV), fallen große Unterschiede auf.

AAV-basierte Gentherapie bietet das Hinzufügen eines „gesunden“ Gens (sog. Genaddition), die je nach Zelltyp temporär (in sich teilenden Zellen) oder längerfristig (in sog. post-mitotische Zellen, die sich nicht mehr teilen) funktioniert. Es kann bei AAV-Behandlung zwar zu Integrationen kommen, diese sind aber relativ selten und zudem abhängig von der genutzten Dosis (siehe Jäschke/Büning, Kap. 4). Damit ist der nicht integrative Aspekt von AAV-Gentherapien besonders hervorzuheben gegenüber CRISPR-basierter Geneditierung.

Bei der retroviralen Gentherapie (siehe Morgan et al., Kap. 3) ist die Integration von Genen beabsichtigt, allerdings ist der Ort der Integration nicht programmierbar. Die halbzufällige Integration im Zellgenom kann zur unbeabsichtigten Hochregulierung oder Ausschaltung von Genen führen (sog. Insertionsmutagenese). In frühen Gentherapiestudien, bei denen sog. γ -retrovirale Vektoren (siehe Morgan et al., Kap. 3) zur Modifikation von Blutstammzellen benutzt worden waren, wurden bei mehreren Patienten einige Zeit nach der erfolgreichen Therapie Leukämien diagnostiziert. Diese Blutkrebskrankungen, die zum Glück in der Mehrzahl der Betroffenen gut therapierbar waren, ließen sich auf die Aktivierung potenziell krebsauslösender Protoonkogene infolge einer solchen Insertionsmutagenese zurückführen. Inzwischen werden für die Modifikation von Blutstammzellen sicherheitsoptimierte lentivirale Vektoren benutzt, wodurch das Risiko einer Insertionsmutagenese deutlich verringert werden konnte.²⁷ Da die für die Immuntherapie (z. B. mit CAR-T-Zellen, siehe Harrer/Abken, Kap. 10) benutzten Lymphozyten wesentlich resistenter gegenüber einer Insertionsmutagenese sind (Newrzela et al. 2008), werden für ihre Genmodifikation beide Typen retroviraler Vektoren erfolgreich benutzt, ohne dass es bei vielen Tausend behandelter Patienten zu schweren Nebenwirkungen infolge der Insertion gekommen wäre.

Mit BEs kann man durch den gezielten Austausch von Basen Gene ausschalten oder reparieren, aber keine DNA integrieren. Mit Prime-Editoren können kleine DNA-Abschnitte integriert werden, aber nur in der Kombination mit Rekombinasen können gezielt große Abschnitte von DNA (wie ganze Gene) an der Zielstelle eingebaut werden. Diese Technik verursacht weniger Indel-Nebenprodukte im Gegensatz zu HDR-basierter „klassischer“ Geneditierung, bringt aber die Schwierigkeit der zusätzlichen Nutzung und Anlieferung einer Rekombinase und der dafür erforderlichen DNA-Vorlage mit sich.

Zudem sind sowohl BE- als auch PE-basierte Systeme ohnehin größer als reine Nukleasen, was die Anlieferung ins Zielgewebe erschweren kann. Wenn man die am besten entwickelte Technologie zur gezielten Anlieferung in Gewebe nutzt, AAV, müssen hierfür fast alle BEs und PEs auf zwei Teile aufgeteilt (duale AAVs) angeliefert werden, was mit sich bringt, dass nicht alle Zellen zwangsläufig beide Komponenten erhalten, sodass sich die Effizienz verringern kann (Levy et al. 2020; Davis et al. 2023).

²⁷ Ausführlich inkl. Referenzen in Morgan et al., Kap. 3.

Wie bei der klassischen Gentherapie stellt somit die Zustellung (Delivery) der GE-Komponenten in das Zielgewebe eine der wichtigsten Herausforderungen für das Genome-Editing dar. Da sich die Anforderungen an die Vektoren in vieler Hinsicht von denen für die klassische Gentherapie unterscheiden, ist Entwicklung optimaler Genfähren für das Genome-Editing ein eigenes neues Forschungsfeld (siehe auch Kap. 3, 4, 5, 6).

7.4 Klinische Anwendung des Genome-Editing

Auch wenn ihre Entwicklung sehr aufwendig war, waren es doch ZFN, die als erste klinisch eingesetzt wurden. Dies lag natürlich daran, dass sie gegenüber den folgenden Designernzymen der 2. und 3. Generation mehr als 10 Jahre „Vorsprung“ hatten.

Die Überführung des Genome-Editing in die klinische Anwendung folgte dabei den für solche Studien geltenden Grundprinzipien – bei der ersten Testung einer neuen Therapie am Menschen muss das Risiko so gering wie möglich gehalten werden.²⁸ Zugleich sollte die Studie natürlich auch wenigstens einige prinzipielle Aussagen erbringen, d. h. das Genome-Editing musste möglichst einfach realisierbar und messbar sein. Da das Ausschalten von Genen per Genome-Editing deutlich einfacher und effizienter als die passgenaue Reparatur ist,²⁹ wurde mithilfe der ZFN das CCR5-Gen in T-Lymphozyten HIV-positiver Patienten zerstört (Tebas 2014). Das von diesem Gen codierte Protein (ein Chemokinrezeptor) dient dem HI-Virus als Co-Rezeptor, d. h. nach der Bindung an seinen eigentlichen Rezeptor benutzt HIV CCR5, um in die Zelle einzudringen. Fehlt CCR5 auf der Zelloberfläche der HIV-Zielzellen, kann das Virus die Zellen nicht infizieren.³⁰ Die klinische Studie wurde in den USA an der University of Pennsylvania mithilfe der US-Firma Sangamo durchgeführt. Die erhobenen Daten zeigten, dass das Genome-Editing in T-Lymphozyten der HIV-Patienten machbar und sicher war. Zugleich gab es immerhin Hinweise auf eine (wenn auch geringe) klinische Wirksamkeit auf die HIV-Infektion, was angesichts der vergleichsweise niedrigen Effizienzen des CCR5-Knockout auch nicht anders zu erwarten war. Insgesamt waren die Daten in jedem Fall sehr wichtig, nicht zuletzt angesichts des Umstands, dass die verwendete ZFN nicht nur weniger aktiv ist, sondern augen-

²⁸Die ersten Anwendungen neuer Therapien im Menschen in sog. Phase-1-Studien zielen darauf ab, die prinzipielle Machbarkeit und Sicherheit zu untersuchen – der therapeutische Nutzen steht noch nicht im Vordergrund. Allerdings werden Gentherapien im Unterschied zu vielen klassischen Pharmazeutika auch schon bei den ersten Anwendungen an Patienten und nicht an gesunden Probanden getestet.

²⁹Ausführlich zu den Mechanismen des Genome-Editing in: Fehse und Abramowski-Mock 2021.

³⁰Ca. 1 % der europäischstämmigen Menschen tragen natürlicherweise in beiden Allelen von CCR5 eine Mutation, sodass ihre Zellen kein CCR5 produzieren können. Betroffene haben keine gesundheitlichen Probleme und sind fast vollständig vor HIV geschützt. Dies diente dem chinesischen Wissenschaftler He Jiankui als Argument, das CCR5-Gen in Keimbahnzellen auszuschalten, um neugeborene Kinder vor einer potenziellen zukünftigen HIV-Infektion zu schützen (vgl. Schickl, Kap. 18).

scheinlich auch zu mehr Fehlern (Off-Target-Schnitten) führt als modernere TALEN- und CRISPR/Cas-basierte Systeme. Die Firma Sangamo hat in der Folge noch mehrere Studien mit der von ihr patentierten CCR5-ZFN, sowohl zur Modifikation von T-Lymphozyten als auch von Blutstammzellen HIV-infizierter Patienten durchgeführt. Insgesamt verzeichnet das Portal [clinicaltrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov) (Zugriff am 10.06.2023) 15 klinische Studien mit dem Suchbegriff „Zinc finger nuclease“, fast alle durchgeführt von Sangamo (davon 9 bei HIV). Da es bei den HIV-Studien jedoch keine relevanten Erfolge im Hinblick auf die Eindämmung der Infektion gab und die Standard-HIV-Therapie immer besser wird, hat Sangamo diese Indikation inzwischen verlassen und konzentriert sich auf Therapien für andere Krankheiten, insbesondere verschiedene monogene Erbkrankheiten wie auch Krebserkrankungen.³¹ Grundsätzlich werden heute aufgrund der oben angesprochenen Komplexität des Verfahrens und der zumeist geringeren Aktivität und Spezifität von ZFN kaum noch neue Enzyme dieses Typs entwickelt.

Bei der zweiten Generation der Designernukleasen, den TALEN, ging die Translation in die klinische Anwendung deutlich schneller als bei den ZFN – bereits 2015 wurde ein an Leukämie erkranktes kleines Mädchen in London mit CAR-T-Zellen (siehe Harrer/Abken, Kap. 10) von einem gesunden Spender behandelt (Qasim et al. 2017). Damit dies möglich war, wurden die Spender-T-Zellen (zusätzlich zum Einbringen des CARs) vor der Infusion mit verschiedenen TALEN so genetisch modifiziert, dass sie nicht sofort von der Patientin abgestoßen wurden und umgekehrt auch nicht das gesunde Gewebe des Mädchens angreifen konnten.³² Die Behandlung des Mädchens, das zu diesem Zeitpunkt als unheilbar galt, war erfolgreich. Entsprechend ist es nicht verwunderlich, dass bis heute fast alle klinischen Studien mit TALEN genau dieser Idee folgen – der Generierung sog. „universeller“ CAR-T-Zellen, die jederzeit und sofort („off-the-shelf“) für die Behandlung von Krebspatienten zur Verfügung stehen. Allerdings galten auch die TALEN mit der Etablierung des CRISPR/Cas-Systems sehr schnell als überholte Technologie.³³

Schon ein Jahr nach den TALEN wurde der erste klinische Einsatz von „gecrisperten“ Zellen in China gemeldet (Cyranoski 2016). Obwohl der US-amerikanische Genterapiepionier Carl June seinerzeit einen Wettlauf zwischen China und den USA als „Sputnik 2.0“ (ähnlich dem zwischen der Sowjetunion und den USA ins Weltall) prognostizierte, waren die Jahre danach von einer relativ langsamen Zunahme der Anzahl klinischer Studien mit CRISPR/Cas gekennzeichnet (Fehse und Abramowski-Mock 2018). Dies lässt sich wahrscheinlich zumindest zum Teil mit initialen Befunden zur Off-Target-Aktivität von CRISPR-Systemen erklären (Fu et al. 2013; Hsu et al. 2013; Cradick et al. 2013). Ein weiteres Hemmnis, insbesondere für die In-vivo-Applikation, könnten Immunreaktionen gegen die bak-

³¹ Siehe unter: <https://www.sangamo.com/programs/#pipeline> [10.06.2023].

³² Sog. Graft-versus-Host-(Spender-gegen-Wirt-)Reaktion – siehe auch Kolb/Fehse, Kap. 11.

³³ Insgesamt verzeichnet [clinicaltrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov) nur 8 klinische Studien mit TALEN, 6 davon mit universellen CAR-T-Zellen. Die Technologie wird vor allem von der französischen Firma Cellectis vorangetrieben (siehe unter: <https://www.cellectis.com/en/products/product-candidates/> [10.06.2023]).

teriellen Cas9-Proteine darstellen (Charlesworth et al. 2019; Wagner et al. 2019). Die beiden ersten und noch heute am weitesten verbreiteten CRISPR/Cas-Systeme stammen aus Staphylokokken (*S. aureus*) und Streptokokken (*S. pyogenes*) – jeweils Bakterien, mit denen praktisch jeder Mensch im Laufe der Jahre in Kontakt kommt. Daher kann es nicht verwundern, dass in fast allen Probanden in entsprechenden Untersuchungen ausgeprägte vorbestehende Immunantworten gegen das Cas9-Protein gefunden wurden.³⁴ Über eine klinische Beeinträchtigung hierdurch in den aktuell laufenden Cas9 nutzenden Studien wurde bisher jedoch nicht berichtet.

Auf der Basis der beobachteten Einschränkungen wurde das CRISPR/Cas-System in den letzten Jahren permanent optimiert. Insbesondere konnte die Wahrscheinlichkeit von Off-Target-Schnitten durch neue hochspezifische Varianten drastisch gesenkt werden. Auch wurden neue Versionen des Genome-Editing etabliert, bei denen die Schnitte (bzw. Doppelstrangbrüche) im Genom gar nicht mehr notwendig sind (siehe Abschn. 7.2), sodass bestimmte Nebenwirkungen³⁵ weitgehend ausgeschlossen werden können. Zudem gelang es in den letzten Jahren, immer bessere Genfähren für den Transport der Genome-Editing-Komponenten in unterschiedliche Zielzellen zu entwickeln, auch wenn es hier noch sehr viel Luft nach oben gibt.

Insgesamt haben die technischen Entwicklungen zu einem merklichen Anstieg der Zahl klinischer Studien mit CRISPR/Cas in den letzten Jahren geführt. Während sich Anfang 2018 nur 11 therapeutische Studien mit dem Stichwort „CRISPR“ bei clinicaltrials.gov finden ließen (Fehse und Abramowski-Mock 2018), sind es aktuell (10.06.2023) über 60.³⁶ Mehr als 50 Studien wurden in China (23) oder den USA (29) initiiert, wobei einige der US-Studien auch in anderen Ländern inkl. Deutschland laufen. Zudem ist wichtig festzuhalten, dass viele der Studien identische bzw. sehr ähnliche Ansätze, Zellprodukte bzw. CRISPR/Cas-Systeme benutzen,³⁷ sodass die Zahl tatsächlich getesteter unterschiedlicher Therapien eher im niedrigen zweistelligen Bereich liegt. In den meisten Fällen werden Blutzellen außerhalb des Körpers genetisch modifiziert und dann zurückgegeben. Dieses Vorgehen hat eine

³⁴Ausführlich zu den Herausforderungen für die klinische Anwendung des Genome-Editing in: Fehse und Abramowski-Mock 2021.

³⁵Ein Beispiel wären Translokationen, die entstehen können, wenn eine Nuklease gleichzeitig an zwei unterschiedlichen Stellen (z. B. „on target“ und „off target“) im Genom schneidet. Zu Translokationen kommt es, wenn die durch die Schnitte generierten vier offenen Enden nicht korrekt (also in der ursprünglichen Anordnung) verknüpft werden.

³⁶Da nicht bei allen registrierten Studien klar ist, ob diese jemals initiiert wurden (die Meldung geht i. d. R. dem Start der Studie voraus), dürfte die tatsächliche Zahl geringer sein.

³⁷Die Mehrzahl der Ansätze zielt (wie schon die erste Anwendung in China) auf die Verbesserung von Immuntherapien gegen Krebs, z. B. mit CAR-T-Zellen. Dazu werden oft sog. Checkpoint-Signale in den Immunzellen ausgeknockt, um die Zellen fitter für den Kampf gegen die Tumorzellen zu machen. Auch wird CRISPR (analog zu den TALEN, siehe oben) zur Herstellung universeller CAR-T-Zellen benutzt. Hier nimmt die Klinik für Stammzelltransplantation des UK Hamburg-Eppendorf als eines von nur wenigen europäischen Zentren an zwei Studien der Firma CRISPR Therapeutics teil.

Reihe entscheidender Vorteile: (i) Die Immunogenität des Cas9 spielt keine Rolle, da das bakterielle Protein gar nicht in den Körper gelangt. (ii) Die Zellen können vor der Rückgabe hinsichtlich der Effizienz des Genome-Editing, aber auch potenzieller Off-Target-Effekte untersucht werden. (iii) Es kann sichergestellt werden, dass das Genome-Editing ausschließlich in den gewünschten Zielzellen (also z. B. T-Lymphozyten) erfolgt.

Besonderes Aufsehen in Deutschland erregte eine Studie der Firmen CRISPR Therapeutics und Vertex zur genetischen Modifikation von Blutstammzellen von β -Thalassämie-Patienten, bei denen aufgrund eines Gendefekts eine Störung der Bildung roter Blutkörperchen vorliegt. Bei dem weltweit ersten Patienten, bei dem Anfang 2019 „gecrisperte“ Blutstammzellen zur Behandlung seiner β -Thalassämie benutzt wurden, handelte es sich um eine junge Frau aus Regensburg. Die Behandlung schlug an und der Zustand der Patientin verbesserte sich deutlich und wie wir inzwischen wissen auch nachhaltig. Der benutzte Ansatz eignet sich auch, um eine weitere Krankheit aus derselben Gruppe³⁸ zu therapieren, die Sichelzellerkrankheit (SCD). Vor der Patientin in Regensburg war der Ansatz nur an einer SCD-Patientin in den USA getestet worden (Frangoul et al. 2021). Inzwischen wurde eine ganze Reihe weiterer Patienten aus beiden Gruppen erfolgreich mit dem Genome-Editing-Ansatz behandelt, sodass die Firma eine Lizenz bei der europäischen und amerikanischen Arzneimittelbehörde beantragt hat.³⁹ Die zu erwartende Zulassung einer ersten auf Genome-Editing basierenden (Stammzell-)Gentherapie würde einen wichtigen Durchbruch für die Technologie darstellen. Die Indikationen β -Thalassämie und SCD haben insofern eine gewisse Brisanz, als dass dafür bereits eine Zulassung für eine vektorbasierte (lentivirale) Gentherapie besteht, die aber von dem Lizenzträger Bluebird Bio in Europa zurückgegeben wurde, weil man sich nicht mit den Kassen über eine adäquate Summe für die Kostenerstattung einigen konnte (vgl. auch Alex/König, Kap. 22), während die Gentherapie in den USA bereits kommerziell verfügbar ist. Hier bleibt abzusehen, welche der Therapien sich langfristig als die beste im Hinblick auf Wirksamkeit, Nebenwirkungen wie auch Preis-Leistungs-Verhältnis erweist – nicht zuletzt auch im Vergleich mit der Blutstammzelltransplantation von einem gesunden Spender. Aus theoretischer Sicht sprechen gerade im Hinblick auf die Langzeiteffekte einige Punkte für das Genome Editing – keine potenzielle Insertionsmutagenese bzw. Genabschaltung wie bei den lentiviralen Vektoren, weniger Toxizität als bei der allogenen SZT. Abzuwarten bleibt, ob sich bei längerer Nachbeobachtung Nebenwirkungen, z. B. infolge von Off-Target-Schnitten, manifestieren.

³⁸ Sog. Hämoglobinopathien, da es sich um Störungen der Bildung des für den Sauerstofftransport in den roten Blutzellen essenziellen Hämoglobins handelt. Auch wenn sich Hämoglobinopathien in bestimmten geografischen Gebieten konzentrieren, sind es doch vergleichsweise häufige Krankheiten mit Dutzenden Millionen Betroffenen.

³⁹ Siehe unter: <https://pharmaphorum.com/news/vertexcrispr-file-first-gene-editing-therapy-fda> [14.06.2023].

7.5 Schluss

Es lässt sich zusammenfassen, dass die klinische Translation von CRISPR/Cas-Systemen noch am Anfang steht, allerdings in den letzten Jahren rasante Fortschritte macht. Dass die Entwicklung länger dauert als z. B. in der Biotechnologie, lässt sich zu einem guten Teil mit der hohen Komplexität der Translation von Forschungsansätzen in klinische Studien im Bereich der Gentherapie erklären. Zugleich sind für die klinische Anwendung des Genome-Editing einige spezifische Herausforderungen (u. a. Delivery, potenzielle Immunogenität) zu meistern, auf die hier nur kurz eingegangen werden konnte.⁴⁰ Angesichts der offensichtlichen theoretischen Vorteile gegenüber der „klassischen“ Genaddition, wird es sehr spannend sein, ob die laufenden und zukünftige klinische Studien in diesem Bereich zu einem Paradigmenwechsel führen werden. Es ist davon auszugehen, dass das Genome-Editing die klassische Gentherapie nicht vollständig verdrängen wird, da sich bestimmte gentherapeutische Ansätze (z. B. onkolytische Viren) nur über Vektortechnologien realisieren lassen. Stattdessen dürften sich beide Technologien gemeinsam weiterentwickeln und gegenseitig befruchten, wie sich am Beispiel der universellen CAR-T-Zellen sehr gut illustrieren lässt.

Therapeutisches Genome-Editing in der Keimbahn ist nach der aktuellen Rechtslage in Deutschland bis auf weiteres ausgeschlossen (siehe Müller-Terpitz, Kap. 17). Angesichts des begrenzten Platzes haben wir uns im vorliegenden Kapitel daher nicht mit den technischen Besonderheiten, potenziellen Möglichkeiten und Risiken des Keimbahn-Genome-Editing auseinandergesetzt.⁴¹ Mit der ethischen Bewertung setzt sich Schickl in Kap. 18 dieses Buches auseinander.

Literatur

- Anderson WF (1972) Genetic therapy. In: Hamilton M (Hrsg) *The new genetics and the future of man*. Michigan, Eerdmans, S 109–124
- Anzalone AV et al (2019) Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature* 576:149–157
- Anzalone AV et al (2020) Genome editing with CRISPR-Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. *Nat Biotechnol* 38:824–844
- Anzalone AV et al (2022) Programmable deletion, replacement, integration and inversion of large DNA sequences with twin prime editing. *Nat Biotechnol* 40:731–740
- Barrangou R et al (2007) CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315:1709–1712
- Bekaert B et al (2023) Retained chromosomal integrity following CRISPR/Cas9-based mutational correction in human embryos. *Mol Ther* 31(8):2326–2341
- Boch J et al (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* 326:1509–1512
- Charlesworth CT et al (2019) Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. *Nat Med* 25:249–254

⁴⁰ Ausführlich dargestellt in: Fehse und Abramowski-Mock 2021.

⁴¹ Aktuelle Arbeiten dazu z. B. Egli et al. 2018; Zuccaro et al. 2020; Bekaert et al. 2023.

- Chen L et al (2023) Adenine transversion editors enable precise, efficient A•T-to-C•G base editing in mammalian cells and embryos. *Nat Biotechnol*
- Chen PL et al (2021) Enhanced prime editing systems by manipulating cellular determinants of editing outcomes. *Cell* 184:5635–5652
- Chiesa R et al (2023) Base-edited CAR7 T cells for relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 389(10):899–910
- Choi J et al (2022) Precise genomic deletions using paired prime editing. *Nat Biotechnol* 40:218–226
- Cong L et al (2013) Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 339(6121):819–23
- Cradick TJ et al (2013) CRISPR/Cas9 systems targeting β -globin and CCR5 genes have substantial off-target activity. *Nucleic Acids Res* 41:9584–9592
- Cyranoski D (2016) CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. *Nature* 539:479
- Davis JR et al (2023) Efficient prime editing in mouse brain, liver and heart with dual AAVs. *Nat Biotechnol*
- Egli D et al (2018) Inter-homologue repair in fertilized human eggs? *Nature* 560:E5–E7
- Fehse B, Abramowski-Mock U (2018) The time is ripe for somatic genome editing: NIH program to strengthen translation. *Mol Ther* 26(3):671–674
- Fehse B, Abramowski-Mock U (2021) Anwendung des Genome Editing in der somatischen Gentherapie. Eine Einführung. Springer Fachmedien, Wiesbaden
- Fehse B et al (2011) Stand wissenschaftlicher und medizinischer Entwicklungen. In: *Gentherapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme*. Forum W, Dornburg, pp 41–126
- Frangoul H et al (2021) CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. *N Engl J Med* 384:252–260
- Fredrickson DS (1991) Asilomar and recombinant DNA. The end of the beginning. In: Hanna KE (Hrsg) *Biomedical politics*. National Academy Press, Washington, DC, S 258–292
- Freese E (1972) Prospects of gene therapy. *Science* 175:1024–1025
- Friedmann T (1992) A brief history of gene therapy. *Nat Genet* 2:93–98
- Friedmann T, Roblin R (1972) Gene therapy for human genetic disease? *Science* 175:949–955
- Fu Y et al (2013) High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *Nat Biotechnol* 31:822–826
- Gasiunas G et al (2012) Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:E2579–E2586
- Gaudelli NM et al (2017) Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature* 551:464–471
- Grünewald J et al (2019) Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors. *Nature* 569:433–437
- Hsu PD et al (2013) DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol* 31:827–832
- Ishino Y et al (1987) Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol* 169:5429–5433
- Jinek M et al (2012) A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337:816–821
- Kim YG et al (1996) Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(3):1156–1160
- Kim D et al (2017) Genome-wide target specificities of CRISPR RNA-guided programmable deaminases. *Nat Biotechnol* 35(5):475–480
- Komor AC et al (2016) Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 533:420–424
- Kurt IC et al (2021) CRISPR C-to-G base editors for inducing targeted DNA transversions in human cells. *Nat Biotechnol* 39:41–46
- Lander ES (2016) The heroes of CRISPR. *Cell* 164:18–28
- Lederberg J (1966) Experimental genetics and human evolution. *Am Nat* 100:9519–9531

- Levy JM et al (2020) Cytosine and adenine base editing of the brain, liver, retina, heart and skeletal muscle of mice via adeno-associated viruses. *Nat Biomed Eng* 4:97–110
- Mojica FJM et al (2005) Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J Mol Evol* 60:174–182
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* 326:1501
- Nelson JW et al (2022) Engineered pegRNAs improve prime editing efficiency. *Nat Biotechnol* 40:402–410
- Newrzela S et al (2008) Resistance of mature T cells to oncogene transformation. *Blood* 112:2278–2286
- Qasim W et al (2017) Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med* 9:eaaj2013
- Rees HR, Liu DR (2018) Base editing precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nat Rev Genet* 19:770–788
- Rogers S et al (1973) Induction of arginase activity with the Shope papilloma virus in tissue culture cells from an argininemic patient. *J Exp Med* 137:1091–1096
- Rouet P et al (1994) Expression of a site-specific endonuclease stimulates homologous recombination in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(13):6064–6068
- Tatum EL (1966) Molecular biology, nucleic acids, and the future of medicine. *Perspect Biol Med* 10:19–32
- Tebas P (2014) Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N Engl J Med* 370:901–910
- Terheggen HG et al (1975) Unsuccessful trial of gene replacement in arginase deficiency. *Z Kinderheilkd* 119:1–3
- Wagner DL et al (2019) High prevalence of *Streptococcus pyogenes* Cas9-reactive T cells within the adult human population. *Nat Med* 25:242–248
- Wang JY, Doudna JA (2023) CRISPR technology a decade of genome editing is only the beginning. *Science* 379:eadd8643
- Yarnall MTN et al (2023) Drag-and-drop genome insertion of large sequences without double-strand DNA cleavage using CRISPR-directed integrases. *Nat Biotechnol* 41:500–512
- Zuccaro MV et al (2020) Allele-specific chromosome removal after Cas9 cleavage in human embryos. *Cell* 183:1650–1664.e15
- Zuo E et al (2019) Cytosine base editor generates substantial off-target single-nucleotide variants in mouse embryos. *Science* 364:289–292

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Teil II

Translation und klinische Anwendung



Technologien und Lösungsansätze für die effiziente Herstellung von Zelltherapeutika für die CAR-Immuntherapie

8

Ulrich Blache, Kati Kebbel, Andrea Quaiser, Georg Popp, Paul Franz, Anna Dünkel, Martin Thoma, Niels König, Uwe Platzbecker, Gerno Schmiedeknecht, Stephan Fricke und Ulrike Köhl

8.1 Einleitung

Die dynamischen Entwicklungen auf dem Gebiet der zellulären Immuntherapie, insbesondere im Bereich der CAR-T-Zellen, ermöglichen neue Erfolg versprechende Behandlungsoptionen von Krebserkrankungen. Zugleich stellen diese noch jungen Krebstherapien die Medizin vor große Herausforderungen. Wie die Herstellung von zellulären Krebstherapeutika im großen Maßstab zur Versorgung der wachsenden

Alle Autoren haben im gleichen Umfang zur Publikation beigetragen.

U. Blache (✉) · K. Kebbel · A. Quaiser · G. Popp · P. Franz · A. Dünkel
G. Schmiedeknecht · S. Fricke · U. Köhl
Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie, Leipzig, Deutschland
e-mail: ulrich.blache@izi.fraunhofer.de

M. Thoma
Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung IPA, Stuttgart, Deutschland

N. König
Fraunhofer-Institut für Produktionstechnologie IPT, Aachen, Deutschland

U. Platzbecker
Klinik und Poliklinik für Hämatologie, Zelltherapie, Hämostaseologie und Infektiologie,
Early Clinical Trials Unit Leipzig (ECTUL), Universitätsklinikum Leipzig,
Leipzig, Deutschland

Patientenzahl in der Zukunft gewährleistet werden kann und welche Hürden es dabei zu überwinden gilt, wird im Folgenden adressiert. Erste Optionen zur automatisierten Herstellung von CAR-T-Zellen sind bereits etabliert. Um zukünftig die Behandlung großer Patientengruppen zu gewährleisten, sind neue Herstellungstechnologien wie allogene Zellquellen, digital gesteuerte Prozessstraßen und automatische Qualitätskontrollen erforderlich.

8.2 Wachsender Bedarf an autologen CAR-T-Zellen

Körpereigene Zellen des Immunsystems zur Bekämpfung maligner Zellen zu nutzen, ist die Grundlage der zellulären Immuntherapie. Die Behandlung mit genetisch veränderten T-Zellen, die mit chimären Antigenrezeptoren (CAR) ausgestattet und gegen bestimmte, sog. tumorassozierte Antigene¹ auf der Oberfläche von Krebszellen gerichtet sind, hat bei einigen hämatologischen Krebserkrankungen zu beeindruckenden Remissionsraten geführt (Maude et al. 2018; Neelapu et al. 2017; Schuster et al. 2019; Wang et al. 2020; Abramson et al. 2020; zur Immuntherapie mit CAR-T-Zellen siehe Harrer/Abken, Kap. 10). Aktuell sind in Europa sechs CAR-T-Zellprodukte (gerichtet gegen CD19² oder BCMA,³ siehe Infobox 1) für die späte Rezidivtherapie hämatologischer Krebserkrankungen zugelassen. Basierend auf den Ergebnissen klinischer Phase-III-Studien und Zulassungen durch die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) sind diese CAR-T-Zelltherapien aktuell auf dem Weg, eine Behandlungsoption für die Zweitlinientherapie⁴ (Westin und Sehn 2022) oder zukünftig gar Erstlinientherapie zu werden.

¹Bei tumorassozierten Antigenen (Zielstrukturen) handelt es sich i. d. R. um Proteine, die auf (idealerweise allen) Krebszellen zu finden sind, teilweise aber auch auf gesunden Zellen. Theoretisch optimal für Immuntherapien wären Zielstrukturen, die ausschließlich auf Krebszellen präsent sind. Leider konnten solche tumorspezifischen Antigene für CAR-T-Zelltherapien bisher nicht identifiziert werden.

²CD19 ist ein Protein, das auf der Oberfläche von B-Zellen vorkommt und als Korezeptor bei der Aktivierung von B-Zellen dient.

³BCMA („B-cell maturation antigen“) ist ein Oberflächenprotein von Plasmazellen, das bei der Regulation der Immunantwort wichtig ist.

⁴Die erste Behandlung einer Erkrankung wird als Erstlinientherapie bezeichnet. Bei Versagen oder Unverträglichkeit dieser folgt die Zweitlinientherapie und danach weitere Therapielinien.

Infobox 1: In Europa zugelassene CAR-T-Zelltherapeutika**Anti-CD19-CAR-T-Zellen:**

- Kymriah® (Tisagenlecleucel)
- Yescarta® (Axicabtagene ciloleucel)
- Tecartus™ (Brexucabtagene autoleucel)
- Breyanzi® (Lisocabtagene maraleucel)

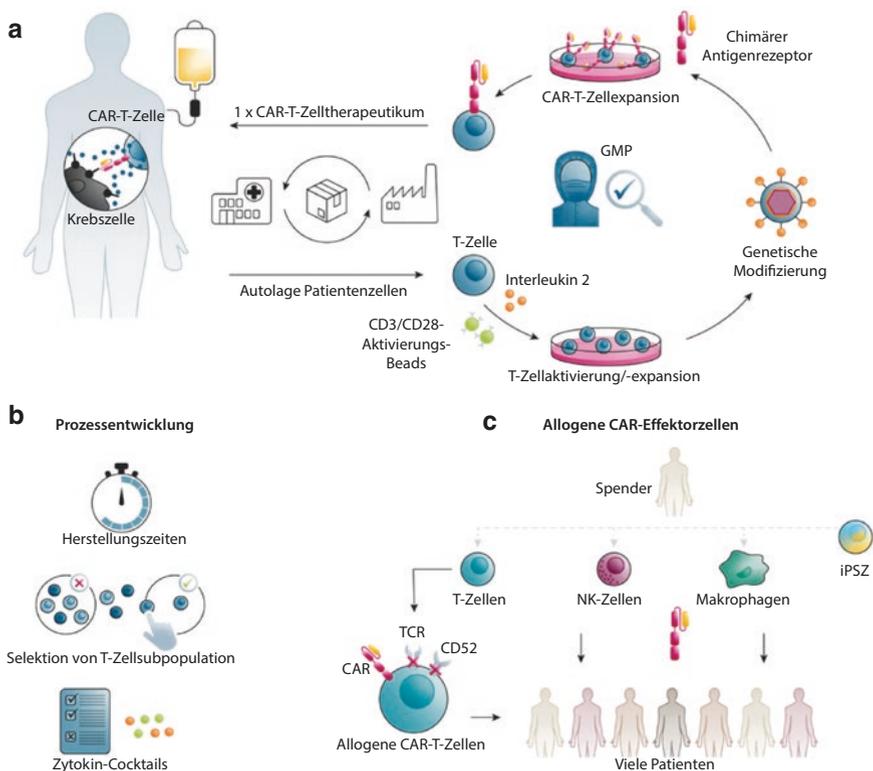
Anti-BCMA-CAR-T-Zellen:

- Abecma®™ (Idecabtagen vicleucel)
- Carvykti™ (Ciltacabtagen autoleucel)

Über die bereits zugelassenen CAR-T-Zellprodukte hinaus wird das Potenzial der zellulären Krebsimmuntherapie derzeit in über 1.000 klinischen Studien untersucht (Saez-Ibañez et al. 2022).⁵ Dabei liegt der Forschungsschwerpunkt stark auf der Überwindung biologischer Limitationen, einschließlich unerwünschter Nebenwirkungen, der immunsuppressiven Mikroumgebung von Tumoren und der Therapieresistenz von soliden Tumoren (Larson und Maus 2021; Chmielewski und Abken 2020; Milone et al. 2021; Labanieh und Mackall 2023). Basierend auf den Entwicklungen in der zellulären Krebsimmuntherapie ist zu erwarten, dass die Anzahl der zugelassenen klinischen Therapien kontinuierlich wachsen und die der infrage kommenden Patienten stark steigen wird. Dies gewinnt insbesondere dann an Bedeutung, wenn in Zukunft auch solide Tumoren mit zellulären Krebsmedikamenten erfolgreich behandelt werden können, da diese (in ihrer Gesamtheit) um ein Vielfaches häufiger als hämatologische Krebserkrankungen sind. Zusätzlich wurden erste beindruckende klinische Ergebnisse zum Einsatz von autologen CAR-T-Zellen bei der Behandlung von Lupus erythematoses, einer Autoimmunerkrankung, berichtet (Mougiakakos et al. 2021; Mackensen et al. 2022). Beachtenswert sind ebenfalls sich in der präklinischen Entwicklung befindliche CAR-T-Zellen für den Einsatz bei weiteren nichtonkologischen und immunvermittelten Erkrankungen wie z. B. Fibrose (Aghajanian et al. 2019; Aghajanian et al. 2022; Rurik et al. 2022; Maldini et al. 2018). Die steigende Nachfrage nach autologen CAR-T-Zellen, und möglicherweise in der Zukunft auch weiteren zellulären Immuntherapien, überschreitet die derzeitigen Produktionskapazitäten. Um das volle Potenzial der zellulären Immuntherapie auszuschöpfen, ist es folglich erforderlich, neue biologische Technologien und Herstellungsverfahren zu entwickeln und zu nutzen, welche die Verfügbarkeit aber auch Bezahlbarkeit von CAR-T-Zellen sicherstellen können (Blache et al. 2022). Derzeit sind ausschließlich autologe, d. h. patienteneigene, CAR-T-Zellen auf dem Markt zugelassen. Ihre Herstellung ist komplex, zeitintensiv und es gibt weltweit nur wenige Zentren, die

⁵Siehe unter: <https://clinicaltrials.gov> [06.04.2023].

zu einer zentralisierten Produktion in der Lage sind. Nachdem das Leukapheresat⁶ des Patienten in der Produktionsstätte angekommen ist, werden hier unter den Bedingungen der guten Herstellungspraxis („Good Manufacturing Practice“, GMP) die T-Zellen isoliert, stimuliert, mit viralen Vektoren, die den CAR-Rezeptor codieren, transduziert,⁷ expandiert und kryokonserviert, um dann zurück zum Patienten geschickt zu werden (siehe Abb. 8.1a⁸ und Infobox 2).



⁶Leukapheresat ist das Produkt, das durch Leukapherese gewonnen wird. Dabei werden die weißen Blutkörperchen (Leukozyten) außerhalb des Körpers aus dem Blut des Spenders (hier: Patienten) isoliert.

⁷Bei der Transduktion wird das Genom der T-Zellen mithilfe viraler Vektoren genetisch verändert.

⁸Abbildung adaptiert aus Blache et al. 2022.

Infobox 2: Herstellungsprozess von CAR-T-Zellen

Der Herstellungsprozess von CAR-T-Zellen umfasst im Wesentlichen die folgenden Schritte:

- Leukozytenentnahme (Leukapherese)
- Isolation von T-Zellen
- genetische Modifikation der T-Zellen
- Expansion der CAR-T-Zellen
- Formulierung des Zellproduktes
- Kryokonservierung des Zellproduktes
- abschließende Qualitätskontrolle

Die Herstellungsprozesse werden weitgehend manuell bis teilweise halbautomatisch durchgeführt, was nicht nur zu einem geringen Durchsatz, sondern auch zur Produktvariabilität und zu sehr hohen Kosten beitragen kann. Um die CAR-T-Zellproduktion zu optimieren, werden derzeit verschiedene Prozessparameter untersucht (siehe Abb. 8.1b). Große Forschungsbemühungen sowohl der pharmazeutischen Industrie als auch von akademischen Einrichtungen haben z. B. eine Verkürzung des aufwendigen Herstellungsprozesses von etwa 14 Tagen auf wenige Tage bis hin zu nur einem Tag ermöglicht (Ghassemi et al. 2022; Flinn et al. 2021; Sperling et al. 2021). Ebenso hat die Forschung ergeben, dass die T-Zellen aus dem Leukapheresat der Patienten biologische Variabilität aufweisen und unterschiedliche T-Zellsubpopulationen enthalten, die den klinischen Erfolg der Therapie deutlich beeinflussen (Fraieta et al. 2018; Deng et al. 2020; Biasco et al. 2021; Locke et al. 2020; Bai et al. 2022; Zhang et al. 2023; Liu et al. 2023). Diesbezüglich könnten Herstellungsprotokolle und Zytokincocktails so angepasst werden, dass gezielt bestimmte, das heißt z. B. besonders gut krebstötende und nicht erschöpfte, T-Zellsubpopulationen ausgewählt und selektiv angereichert



Abb. 8.1 Herstellung von CAR-T-Zellen und biologische Ansätze zur Erhöhung der Verfügbarkeit von CAR-Immuntherapien

(a) Die Chimäre-Antigenrezeptor(CAR-)T-Zellimmuntherapie basiert heute i. d. R. auf patienteneigenen T-Zellen, die nach Ex-vivo-Modifikation an den gleichen Patienten zurückgegeben werden. Der Produktionsprozess wird unter GMP-Bedingungen durchgeführt und durch zahlreiche Qualitätskontrollen überwacht. (b) Ansätze zur Steigerung der CAR-T-Zellqualität durch Prozessentwicklung umfassen die Verkürzung der Herstellungszeit, die Auswahl effizienter T-Zell- oder CAR-T-Zellsubpopulationen und optimierte Zytokinkombinationen. (c) Für die allogene CAR-Immuntherapie werden verschiedene Immunzellen von gesunden Spendern gewonnen und genetisch modifiziert. Zellen eines Spenders können dann einer großen Patientenkohorte in kurzer Zeit verabreicht werden. Um gegenseitige Abstoßungsreaktionen zwischen Spender- und Empfängerimmunzellen zu vermeiden, müssen die allogenen CAR-T-Zellen mithilfe von Methoden der Genomeditierung (siehe Fehse et al., Kap. 7) zusätzlich modifiziert werden, z. B. durch Deletion des T-Zellrezeptors (TCR) und des CD52-Proteins. Andere vielversprechende Effektorzellen sind natürliche Killerzellen (NK) oder Makrophagen. Um Zellen für allogene CAR-Zellen zu gewinnen, könnten in Zukunft reife gesunde Spenderzellen aus induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSZ) gewonnen werden

werden. Weitere Fortschritte in der zellbiologischen Forschung, der Prozessentwicklung sowie im Bereich neuer Bioreaktortechnologien werden zur Optimierung der Herstellung autologer CAR-T-Zellen beitragen, allerdings werden der autologen, d. h. individualisierten Krebsimmuntherapie immer Grenzen bzgl. der Verfügbarkeit in größeren Mengen gesetzt bleiben.

8.3 Allogene CAR-Effektorzellen als Off-the-Shelf-Produkte

Ein sehr vielversprechender Ansatz zur Erhöhung der Verfügbarkeit von CAR-Zelltherapeutika ist die allogene Immuntherapie. Anstatt autologe Patientenzellen zu verwenden, dienen Zellen gesunder Spender als Ausgangsmaterial für die Produktion von CAR-Zellprodukten (siehe Abb. 8.1c). Die Vorteile der allogenen CAR-Immuntherapie sind, dass die klinische Anwendung stark beschleunigt werden könnte, da CAR-Zellen dann „off the shelf“⁹ verfügbar wären und wesentlich mehr Patienten in kurzer Zeit behandelt werden könnten. Darüber hinaus hat die Herstellung großer Chargen allogener CAR-Zellprodukte das Potenzial, die erforderliche Arbeitskraft und damit die Herstellungskosten pro Produkt zu senken. Allerdings sind sorgfältige Berechnungen erforderlich, um final belastbare Schlussfolgerungen bzgl. möglicher Kostenreduktion ziehen zu können. Die Anzahl der Patienten, die mit einer allogenen Charge behandelt werden können, hängt von neuen, effizienten Herstellungsprozessen und passfähigen Bioreaktortechnologien für die Herstellung allogener CAR-Zellen ab. Zudem entstehen bei der Herstellung zusätzliche Kosten für die Genomeditierung, insofern erforderlich (siehe unten).

Allogene Ansätze mit CAR-T-Zellen sind mit grundlegenden Problemen konfrontiert, die durch die immunologische Barriere verursacht werden. Eine wichtige Strategie zur Vermeidung der alloimmunen Abstoßung und der resultierenden Graft-versus-Host-Krankheit (GvHD) ist die Unterbrechung des T-Zellrezeptor (TCR)-Signales durch Genomeditierung, was zu universell anwendbaren CAR-T-Zellen führt. Frühe klinische Studien mit allogenen TCR-negativen Anti-CD19-CAR-T-Zellen (von drei verschiedenen Spendern stammend) führten bei 21 Leukämiepatienten zu Remissionen. Nur wenige Patienten entwickelten dabei eine milde GvHD (Benjamin et al. 2020). Zukünftige Studien mit größeren Patientenkohorten sind notwendig, um diese vorläufigen Ergebnisse zu bestätigen, aber auch, um die Gründe für die kürzere Ansprechdauer von allogenen CAR-T-Zellen im Vergleich zu autologen CAR-T-Zellen zu untersuchen, da diese trotz der Modifizierung relativ schnell abgestoßen zu werden scheinen. Daher ist auch die Möglichkeit wiederholter Gaben von allogenen CAR-T-Zellen Gegenstand von gegenwärtigen Untersuchungen. Es wird ebenfalls interessant sein zu untersuchen, wie unterschiedlich die Reaktionen zwischen verschiedenen allogenen Zellchargen in Bezug auf ihre Herstellung und klinische Wirksamkeit sein werden

⁹ „Aus dem Regal“, d. h. die Zellen müssen nicht erst patientenindividuell hergestellt werden, sondern können wie ein klassisches Arzneimittel in der Apotheke (unter geeigneten Bedingungen) gelagert werden.

(DiNofia und Grupp 2021). Alternativ können auch natürliche Killerzellen (NK-Zellen) für die allogene CAR-Immuntherapie verwendet werden. Eine weitere genetische Veränderung über das CAR-Konstrukt hinaus ist dabei nicht nötig, da NK-Zellen keine oder nur in wenigen Fällen eine sehr milde GvHD verursachen (Ruggeri et al. 2002; Rubnitz et al. 2010; Shimasaki et al. 2020). So konnte in einer ersten Phase-I/II-Studie die Wirksamkeit von aus Nabelschnurblut hergestellten Anti-CD19-CAR-NK-Zellen bei 11 Patienten mit Lymphomen oder Leukämie belegt werden (Liu et al. 2020). Keiner der Patienten entwickelte eine GvHD oder die für CAR-T-Zellen typischen Nebenwirkungen Zytokinfreisetzungssyndrom und Neurotoxizität. Eine weitere potentielle Möglichkeit für eine allogene CAR-Immuntherapie bieten Makrophagen, phagozytierende (bzw. Fress-)Zellen des angeborenen Immunsystems (Morrissey et al. 2018; Klichinsky et al. 2020). Allerdings liegen für CAR-Makrophagen noch keine klinischen Studienergebnisse vor.

Obwohl bei allogenen Ansätzen die Immuneffektorzellen von gesunden Spendern stammen, ist die Erreichung hoher Zellzahlen, wie sie für große Chargen notwendig wären, aus adulten Zellen nur eingeschränkt möglich. Dies könnte in Zukunft durch die Verwendung von induzierten pluripotenten Stammzellen für die Herstellung von CAR-T- oder CAR-NK-Zellen gelöst werden (Nagano et al. 2020; Themeli et al. 2013; Wang et al. 2021; Li et al. 2018). Bevor iPSC-basierte Zellprodukte klinisch eingesetzt werden können, muss ihre langfristige Sicherheit beim Menschen nachgewiesen werden, insbesondere im Hinblick auf ihr tumorigenes Potenzial zur Bildung von Teratomen (Yamanaka 2020; Lee 2013). Grundsätzlich zeigt sich, dass die Persistenz allogener T- und NK-Zellen deutlich kürzer ist im Vergleich zur bis zu 10 Jahren anhaltenden Persistenz autologer CAR-T-Zellen im Körper (Melenhorst et al. 2022). Dies könnte mehrfache Infusionen allogener CAR-Effektorzellen erforderlich machen, und unterstreicht damit einmal mehr die Wichtigkeit effizienter Herstellungslösungen.

8.4 Automatisierte Herstellung zur Verbesserung der Verfügbarkeit von CAR-Immuntherapien

Ausschließlich durch Verbesserungen derzeitiger Herstellungsprotokolle und den Einsatz allogener CAR-Effektorzellen wird die steigende Nachfrage nach CAR-Zellprodukten nicht zu befriedigen sein. Sollte zukünftig nicht eine größere Anzahl an CAR-Zelltherapeutika in klinischer Qualität hergestellt werden können, wird letztlich nur ein Teil der Patienten von einer zellulären Immuntherapie profitieren. Um eine signifikante Steigerung der Produktzahl zu ermöglichen, müssen neben den bereits beschriebenen biologischen Innovationen auch neue Produktionstechnologien entwickelt und implementiert werden (siehe Abb. 8.2).¹⁰ In der Automobilindustrie, der Lebensmittelindustrie und auch in der klassischen Pharmaindustrie sind automatisierte Produktionslösungen bereits allgegenwärtig, für die Herstellung von Zellen in klinischer Qualität sind Automatisierungstechnologien hingegen noch

¹⁰Abbildung adaptiert aus Blache et al. 2022.

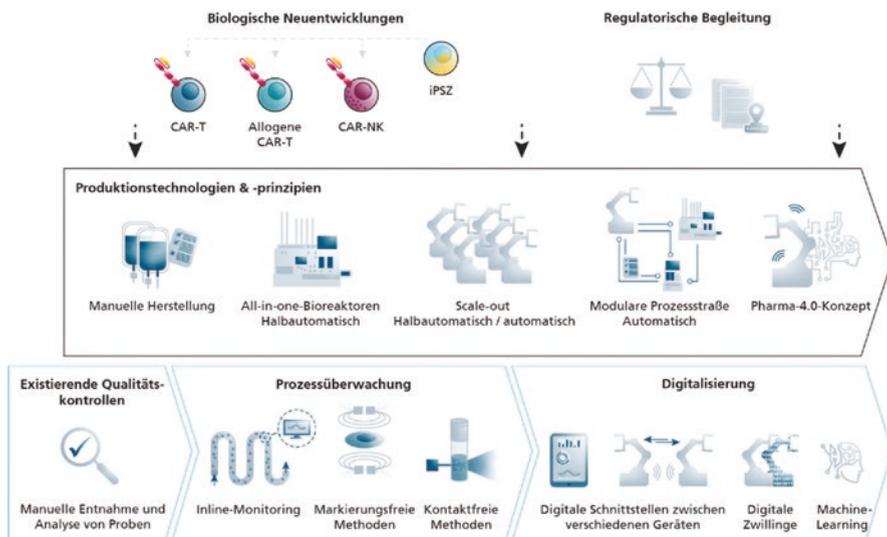


Abb. 8.2 Technologische Innovationen für die automatisierte Herstellung von CAR-Effektorzellen. Neuartige Produktionstechnologien und -prinzipien, um eine automatisierte CAR-Zellproduktion zu ermöglichen: CAR-T-Zellen werden oft manuell hergestellt, aber erste halbautomatische All-in-one-Bioreaktoren stehen für die GMP-konforme Herstellung zur Verfügung. Für eine Hochdurchsatzproduktion von autologen Produkten ist der Einsatz parallelisierter Geräte eine Lösung. Ein weiteres Prinzip ist die Verbindung verschiedener Fertigungsgeräte, die bestimmte Teilprozesse der Herstellung automatisch in Prozessstraßen ausführen. Für die Vollautomatisierung sind neuartige technische Lösungen in den Bereichen Echtzeitüberwachung und Inline-Qualitätskontrollen (nichtinvasiv, markierungsfrei, kontaktfrei) nötig. Darüber hinaus erfordert die automatisierte Hochdurchsatzfertigung von CAR-Zellprodukten die Implementierung echtzeitfähiger Datenverarbeitungssysteme sowie die digitale Kommunikation aller beteiligten Geräte und digitale Repräsentanten des Systems (digitale Zwillinge)

unterrepräsentiert. Für die GMP-gerechte Herstellung von autologen CAR-T-Zellen sind bereits erste teilautomatische Bioreaktorsysteme auf dem Markt und im Einsatz. Diese Bioreaktoren ermöglichen die Zellselektion, Stimulation, Transduktion und Expansion in einem geschlossenen System, und ihre Eignung zur Herstellung von CAR-T- und CAR-NK-Zellen wurde in einer Reihe von Studien nachgewiesen (Lock et al. 2017; Mock et al. 2016; Priesner et al. 2016; Shah et al. 2020; Aleksandrova et al. 2019; Klöß et al. 2017; Oberschmidt et al. 2019; Jackson et al. 2020). Das Interesse an der Herstellung von CAR-T-Zellen in einem geschlossenen System nimmt zu und mehrere neue Bioreaktorsysteme werden derzeit von der Biotech-industrie entwickelt. Allerdings produzieren diese All-in-one-Bioreaktoren nur ein Produkt pro Durchlauf und sind dadurch wenig flexibel und nur eingeschränkt für größere Produktzahlen einsetzbar. Des Weiteren enthalten diese Bioreaktorsysteme i. d. R. Funktionen, die nicht alle im gleichen Maß ausgelastet und nur kurzzeitig im teilautomatisierten Ablauf genutzt werden können. Eine Erhöhung der Produktionskapazitäten ist mit solchen monolithischen Systemen nur durch Multiplikation der Systeme (Scale-out) möglich, was zu einer drastischen Erhöhung des Platzbedarfs und einer ineffizienten Ressourcennutzung führt.

Abhilfe könnten modulare Systeme innerhalb einer automatisierten Prozessstraße schaffen. Dafür müssen flexible Verbindungen und programmierbare Schnittstellen zwischen verschiedenen Geräteplattformen entwickelt werden, die spezifische Teilprozesse des Herstellungsprozesses abbilden, sodass jedes Gerät mit hoher Auslastung und parallel arbeiten kann. Dies würde die gleichzeitige Herstellung mehrerer Produkte ermöglichen. In Zukunft könnten solche Fertigungsstraßen von der Vielfalt der neu entwickelten Geräte für die Produktion von Zelltherapeutika profitieren, insofern die Konnektivität zwischen den einzelnen Geräten gewährleistet ist. Insbesondere für die Herstellung allogener Off-the-Shelf-CAR-Immuntherapien müssen automatisierte und skalierbare Technologien erst noch entwickelt werden, sodass in Zukunft Hunderte von Patienten mit einer einzigen Zellcharge behandelt werden können. Für autologe und allogene CAR-Effektorzellen wird derzeit mit dem vom BMBF geförderten Zukunftscluster *SaxoCell* ein Beitrag zur Beschleunigung der Automatisierung und Optimierung von Herstellungsprozessen geleistet, um das übergeordnete Ziel, vielen Patienten den Zugang zu zellulären Immuntherapien zu gewährleisten, zu ermöglichen.¹¹

8.5 Qualitätskontrollen und Digitalisierungstechnologien für die automatisierte Herstellung

Die Herstellung von CAR-T-Zellen erfordert umfangreiche Qualitätskontrollen (QKs), um den Produktionsprozess zu überwachen und das Endprodukt für die klinische Anwendung freizugeben. GMP-fähige Bioreaktoren für die teilautomatisierte Zellproduktion messen grundlegende Prozessparameter wie Gas, Temperatur und pH-Wert bereits über integrierte Sensorik. Für die weitere QK müssen dem Zelltherapeutikum Proben aktuell manuell entnommen werden, um anschließend offline mittels molekularer und zellulärer Analysen geprüft zu werden (siehe Infobox 3).

Eine Echtzeitanpassung des Produktionsprozesses basierend auf QK-Parametern ist somit aktuell ausgeschlossen. Daher erfordern neue Herstellungskonzepte, die auf einer vollständigen End-to-End-Automatisierung beruhen, intelligente Überwachungstechnologien zur QK. Für die automatische Messung von Zellzahl und Vitalität existieren bereits mehrere technische Lösungen, aber die Integration solcher Techniken in automatisierte Produktionsabläufe steht noch aus. Des Weiteren sind für CAR-T-Zellprodukte komplexe analytische Methoden wie die Durchflusszytometrie¹² und die qRT-PCR¹³ erforderlich, um die Zellidentität sowie Gen- und Proteinexpressionen zu messen. Für eine vollständige Automatisierung muss die Prozessüberwachung online oder inline mit dem Herstellungsprozess erfolgen. Es bedarf weiterer Forschung und Entwicklung, um bestehende molekulare und zelluläre QK-Methoden in automatisierte Herstellungsprozesse zu integrieren, z. B. durch die Entwicklung von qRT-PCR- oder Durchflusszytometriegeräten, die mit Bioreaktorplattformen direkt mikrofluidisch verbunden sind. Darüber hinaus könnten

¹¹ Siehe unter: www.saxocell.de [06.04.2023].

¹² Durchflusszytometrie bezeichnet eine Methode zur Einzelzellanalyse von Zellen in einer Probe mithilfe von Lasern, um Größe, Form und zelluläre Marker zu messen.

¹³ qRT-PCR ist eine Methode zur quantitativen Messung von Genexpression.

Infobox 3: Qualitätskontrolle

Im Rahmen der Qualitätskontrolle werden aktuell folgende Parameter untersucht:

- Aussehen, optische Kontrolle
- Anzahl
- Identität
- Reinheit
- Viabilität
- Funktionalität
- Vektor-Copy-Anzahl
- Sterilität
- Mykoplasmen
- Endotoxine

markierungsfreie, biophysikalische Methoden den QK-Prozess optimieren, da die Proben in Echtzeit unter minimalinvasiven Bedingungen analysiert werden können. Zum Beispiel wurde die mechanische Zytometrie, die auf der Zellverformbarkeit mittels mechanischer Kräfte basiert, kürzlich für die Phänotypisierung und Analyse von Immunzellen erfolgreich eingesetzt (Toepfner et al. 2018; Aurich et al. 2020; Rosendahl et al. 2018). Optimal wären außerdem biooptische Methoden, die nicht nur markierungsfrei, sondern auch kontaktfrei sind, sodass eine Probenentnahme überflüssig wäre. Beispielsweise konnte der Aktivierungsstatus von T-Zellen mithilfe von Autofluoreszenzbildgebung bestimmt werden (Walsh et al. 2021).

Neben neuen Bioreaktor- und QK-Technologien erfordert die automatisierte Produktion sowohl eine digitale Kommunikation zwischen den eingesetzten Geräten als auch effiziente Datenverarbeitungssysteme, die eine Anpassung und Optimierung der Produktionsprozesse in Echtzeit (oder nahezu in Echtzeit) erlauben (Jung et al. 2018; Moutsatsou et al. 2019; Doulgkeroglou et al. 2020). Die Integration von automatisierten Produktionsplattformen, neuartigen Überwachungstechnologien und fortschrittlicher Datenanalyse wird ein komplexes Gesamtsystem erschaffen, welches das Potenzial bietet, flexibel auf Abweichungen zu reagieren. Möglich wird dies durch eine Vernetzung aller Komponenten und die Datendurchgängigkeit in allen Steuerungsebenen. Solche Systeme dokumentieren automatisiert sämtliche Prozesszustände, welches für die Rückverfolgbarkeit und das Verständnis der komplexen Wirkzusammenhänge hilfreich ist. Virtuelle Darstellungen solcher Produktionssysteme, auch bekannt als digitale Zwillinge, könnten zukünftig Simulationen und Leistungstests auf der Grundlage von Echtzeitdaten durchführen und somit die Effizienz der CAR-T-Zellherstellung steigern. Digitale Zwillinge werden bereits weitgehend in der industriellen Fertigung und Logistik eingesetzt. In der Medizin wurden erste digitale Zwillingskonzepte für Zellkulturen und Tissue-engineering beschrieben und werden *in silico*, d. h. computerbasiert, bereits für orthopädische Implantatoperationen eingesetzt (Geris et al. 2018; Möller und Pört-

ner 2021). Um digitale Zwillingssysteme über konzeptionelle Ansätze hinaus zu entwickeln, sind jedoch große Anstrengungen erforderlich, insbesondere um offene Schnittstellen zwischen den vielen verschiedenen Geräten zu schaffen, die für die Herstellung von CAR-T-Zellen benötigt werden (Miehe et al. 2020). Von ganz entscheidender Bedeutung ist darüber hinaus die Einbindung behördlicher Institutionen für jede neue Technologie, die in einem frühen Stadium des Prozesses bewertet werden sollte.

8.6 Ausblick

In Ergänzung zu den zuvor beschriebenen Entwicklungen im Bereich der Zellbiologie und Produktionstechnologie kommen weitere produktionsbezogene Fragen auf. Ein entscheidender Aspekt ist, sich mit den Gentransfermethoden zu befassen, die für die CAR-Zellherstellung verwendet werden. Derzeit wird das CAR-Gen in allen zugelassenen CAR-T-Zellprodukten und in der weit überwiegenden Mehrheit der klinischen Studien durch γ -retrovirale und lentivirale Vektoren ex vivo in die T-Zellen eingebracht und zufällig ins Genom eingebaut. Alternative nichtvirale Methoden für den Ex-vivo-Gentransfer umfassen die Verwendung von mRNA-Technologien, Transposons oder genomeditierenden Enzymen und sind bereits in ersten Proof-of-Concept-Studien eingesetzt (Rurik et al. 2022; Kebriaei et al. 2017; Prommersberger et al. 2021; Miliotou et al. 2022; Irving et al. 2021; Kebriaei et al. 2016; Monjezi et al. 2017; Zhang et al. 2022). Im Gegensatz dazu können für die direkte In-vivo-CAR-T-Zellherstellung, sprich eine T-Zellmodifikation im Körper ohne den Weg über Ex-vivo-Schritte zu gehen, Adeno-assoziierte Vektoren (AAV) und nichtvirale Technologien für den kontrollierten CAR-Gentransfer in Immunzellen eingesetzt werden (Nawaz et al. 2021; Xin et al. 2022; Mai et al. 2022). Es ist aber weitere Forschung erforderlich, um die Persistenz und Sicherheit solcher Alternativmethoden zu verbessern. Ein weiterer Diskussionspunkt ist die Frage, ob in Zukunft eine dezentralisierte CAR-Zellherstellung die derzeitige zentralisierte Produktion ergänzen oder gar ersetzen kann. Wir sind der Meinung, dass mit Blick auf den wachsenden Bedarf an CAR-Zellprodukten für die Krebstherapie und zukünftig auch für nichtonkologische Erkrankungen die zentrale Herstellung autologer CAR-T-Zellprodukte, erweitert um allogene Ansätze und automatisierte Herstellungslösungen, essenziell bleibt, um viele Patienten sicher behandeln zu können. Auf der anderen Seite werden sich dezentrale Point-of-Care-Technologien dort etablieren, wo teils nah am Patienten Zelltherapeutika zeitlich sehr dringend benötigt und hergestellt werden müssen. Diesbezüglich darf im Sinne der Qualität der Produkte der hohe und regelmäßige Trainingsaufwand des Personals nicht unterschätzt werden. Für den Fortschritt in Deutschland ist ferner der Abbau von Bürokratie, die personelle Aufstockung von Behörden und die Beschleunigung von Entscheidungsprozessen bei der Initiierung klinischer Studien essenziell und erfordert die Schaffung entsprechender Rahmenbedingungen und finanzieller Möglichkeiten im europäisch-internationalen Kontext.

Danksagung Wir bedanken uns bei Michaela Grunert für die Unterstützung bei der Anfertigung der grafischen Elemente des Beitrages. Des Weiteren bedanken wir uns bei Prof. Dr. Robert Schmitt (Fraunhofer IPT) und Prof. Dr. Thomas Bauernhansl (Fraunhofer IPA) für die Unterstützung des Projektes. Der Beitrag wurde ermöglicht durch die Förderung des BMBF Clusters4Future SaxoCell (03ZU1111NA, 03ZU1111CA) mit Unterstützung des Fraunhofer Leitprojekts RNAuto, des Fraunhofer Cluster of Excellence for Immune-Mediated Diseases (CIMD) und der EU-Projekte T2Evolve, ImSAVAR und AIDPATH.

Literatur

- Abramson JS et al (2020) Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet* 396:839–852
- Aghajanian H et al (2019) Targeting cardiac fibrosis with engineered T cells. *Nature* 573:430–433
- Aghajanian H et al (2022) CAR-based therapies: opportunities for immuno-medicine beyond cancer. *Nat Metab* 4:163–169
- Aleksandrova K et al (2019) Functionality and cell senescence of CD4/ CD8-selected CD20 CAR T cells manufactured using the automated CliniMACS Prodigy® platform. *Transfus Med Hemother* 46:47–54
- Aurich K et al (2020) Label-free on chip quality assessment of cellular blood products using real-time deformability cytometry. *Lab Chip* 20:2306–2316
- Bai Z et al (2022) Single-cell antigen-specific landscape of CAR T infusion product identifies determinants of CD19-positive relapse in patients with ALL. *Sci Adv* 8(23):eabj2820
- Benjamin R et al (2020) Genome-edited, donor-derived allogeneic anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in paediatric and adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: results of two phase 1 studies. *Lancet* 396:1885–1894
- Biasco L et al (2021) Clonal expansion of T memory stem cells determines early anti-leukemic responses and long-term CAR T cell persistence in patients. *Nat Can* 2:629–642
- Blache U et al (2022) Potential solutions for manufacture of CAR T cells in cancer immunotherapy. *Nat Commun* 13:5225
- Chmielewski M, Abken H (2020) TRUCKS, the fourth-generation CAR T cells: current developments and clinical translation. *Adv Cell Gene Ther* 3(3):e84
- Deng Q et al (2020) Characteristics of anti-CD19 CAR T cell infusion products associated with efficacy and toxicity in patients with large B cell lymphomas. *Nat Med* 26:1878–1887
- DiNofia AM, Grupp SA (2021) Will allogeneic CAR T cells for CD19+ malignancies take autologous CAR T cells ‘off the shelf’? *Nat Rev Clin Oncol* 18:195–196
- Doulgeroglou M-N et al (2020) Automation, monitoring, and standardization of cell product Manufacturing. *Front Bioeng Biotechnol* 8:811
- Flinn IW et al (2021) A first-in-human study of YTB323, a novel, autologous CD19-directed CAR-T cell therapy manufactured using the novel T-charge TM platform, for the treatment of patients (Pts) with relapsed/refractory (r/r) diffuse large B-Cell lymphoma (DLBCL). *Blood* 138:740
- Fraietta JA et al (2018) Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med* 24:563–571
- Geris L et al (2018) The future is digital: In silico tissue engineering. *Curr Opin Biomed Eng* 6:92–98
- Ghassemi S et al (2022) Rapid manufacturing of non-activated potent CAR T cells. *Nat Biomed Eng* 6:118–128
- Irving M et al (2021) Choosing the right tool for genetic engineering: clinical lessons from chimeric antigen receptor-T cells. *Hum Gene Ther* 32:1044–1058

- Jackson Z et al (2020) Automated manufacture of autologous CD19 CAR-T cells for treatment of non-hodgkin lymphoma. *Front Immunol* 11:1941
- Jung S et al (2018) Highly modular and generic control software for adaptive cell processing on automated production platforms. *Procedia CIRP* 72:1245–1250
- Kebrlraei P et al (2016) Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *J Clin Investig* 126:3363–3376
- Kebrlraei P et al (2017) Therapy with the Sleeping Beauty transposon system. *Trends Gent* 33:852–870
- Klichinsky M et al (2020) Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy. *Nat Biotechnol* 38:947–953
- Klöß S et al (2017) Optimization of human NK cell manufacturing: fully automated separation, improved ex vivo expansion using IL-21 with autologous feeder cells, and generation of anti-CD123-CAR-expressing effector cells. *Hum Gene Ther* 28:897–913
- Labanieh L, Mackall CL (2023) CAR immune cells: design principles, resistance and the next generation. *Nature* 614:635–648
- Larson RC, Maus MV (2021) Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nat Rev Cancer* 21:145–161
- Lee AS (2013) Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies. *Nat Med* 19:998–1004
- Li Y et al (2018) Human iPSC-derived natural killer cells engineered with chimeric antigen receptors enhance anti-tumor activity. *Cell Stem Cell* 23:181–192
- Liu E et al (2020) Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. *The New Engl J Med* 382:545–553
- Liu Y et al (2023) Optimizing the manufacturing and antitumour response of CAR T therapy. *Nat Rev Bioeng* 1:271–285
- Lock D et al (2017) Automated manufacturing of potent CD20-directed chimeric antigen receptor T cells for clinical use. *Hum Gene Ther* 28:914–925
- Locke FL et al (2020) Tumor burden, inflammation, and product attributes determine outcomes of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 4:4898–4911
- Mackensen A et al (2022) Anti-CD19 CAR T cell therapy for refractory systemic lupus erythematosus. *Nat Med* 28:2124–2132
- Mai D et al (2022) In vivo gene immunotherapy for cancer. *Sci Transl Med* 14(670):eabo3603
- Maldini CR et al (2018) CAR T cells for infection, autoimmunity and allotransplantation. *Nat Rev Immunol* 18:605–616
- Maude SL et al (2018) Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *New Engl J Med* 378:439–448
- Melenhorst JJ et al (2022) Decade-long leukaemia remissions with persistence of CD4+ CAR T cells. *Nature* 602:503–509
- Miehe R et al (2020) Basic considerations for a digital twin of biointelligent systems: applying technical design patterns to biological systems. *CIRP J Manuf Sci Eng* 31:548–560
- Miliotou AN et al (2022) In vitro-transcribed mRNAs as a new generation of therapeutics in the dawn of twenty-first century: exploitation of peptides as carriers for their intracellular delivery. Jurga, S./Barciszewski, J. (Hrsg.): *Messenger RNA therapeutics*. Springer, Heidelberg: 209–235
- Milone MC et al (2021) Engineering enhanced CAR T cells for improved cancer therapy. *Nat Can* 2(8):780–793
- Mock U et al (2016) Automated manufacturing of chimeric antigen receptor T cells for adoptive immunotherapy using CliniMACS prodigy. *Cytotherapy* 18:1002–1011
- Möller J, Pörtner R (2021) Digital twins for tissue culture techniques – concepts, expectations, and state of the art. *Processes* 9:447
- Monjezi R et al (2017) Enhanced CAR T-cell engineering using non-viral sleeping beauty transposition from minicircle vectors. *Leukemia* 31:186–194
- Morrissey MA et al (2018) Chimeric antigen receptors that trigger phagocytosis. *elife* 7:e36688

- Mougiakakos D et al (2021) CD19-Targeted CAR T cells in refractory systemic lupus erythematosus. *New Engl J Med* 385:567–569
- Moutsatsou P et al (2019) Automation in cell and gene therapy manufacturing: from past to future. *Biotechnol Lett* 41:1245–1253
- Nagano S et al (2020) High frequency production of T cell-derived iPSC clones capable of generating potent cytotoxic T cells. *Mol Ther Methods Clin Dev* 16:126–135
- Nawaz W et al (2021) AAV-mediated in vivo CAR gene therapy for targeting human T-cell leukemia. *Blood Canc J* 11:119
- Neelapu SS et al (2017) Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *New Engl J Med* 377:2531–2544
- Oberschmidt O et al (2019) Development of automated separation, expansion, and quality control protocols for clinical-scale manufacturing of primary human NK cells and alpharetroviral chimeric antigen receptor engineering. *Hum Gene Ther Methods* 3(3):102–120
- Priesner C et al (2016) Automated enrichment, transduction, and expansion of clinical-scale CD62L+ T cells for manufacturing of gene therapy medicinal products. *Hum Gene Ther* 27:860–869
- Prommersberger S et al (2021) CARAMBA: a first-in-human clinical trial with SLAMF7 CAR-T cells prepared by virus-free Sleeping Beauty gene transfer to treat multiple myeloma. *Gene Ther* 28:560–571
- Rosendahl P et al (2018) Real-time fluorescence and deformability cytometry. *Nat Methods* 15:355–358
- Rubnitz JE et al (2010) NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 28(6):955–959
- Ruggeri L et al (2002) Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 295:2097–2100
- Rurik JG et al (2022) CAR T cells produced in vivo to treat cardiac injury. *Science* 375:91–96
- Saez-Ibañez AR et al (2022) Landscape of cancer cell therapies: trends and real-world data. *Nat Rev Drug Discov* 21:631–632
- Schuster SJ et al (2019) Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *New Engl J Med* 380:45–56
- Shah NN et al (2020) Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nat Med* 26:1569–1575
- Shimasaki N et al (2020) NK cells for cancer immunotherapy. *Nat Rev Drug Discov* 19:200–218
- Sperling AS et al (2021) Phase I study of PHE885, a fully human BCMA-directed CAR-T cell therapy for relapsed/refractory multiple myeloma manufactured in <2 days using the T-charge TM platform. *Blood* 138:3864
- Themeli M et al (2013) Generation of tumor-targeted human T lymphocytes from induced pluripotent stem cells for cancer therapy. *Nat Biotechnol* 31:928–933
- Toepfner N et al (2018) Detection of human disease conditions by single-cell morpho-rheological phenotyping of blood. *elife* 7:e29213
- Walsh AJ et al (2021) Classification of T-cell activation via autofluorescence lifetime imaging. *Nat Biomed Eng* 5:77–88
- Wang M et al (2020) KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *New Engl J Med* 382:1331–1342
- Wang B et al (2021) Generation of hypoimmunogenic T cells from genetically engineered allogeneic human induced pluripotent stem cells. *Nat Biomed Eng* 5:429–440
- Westin J, Sehn LH (2022) CAR T cells as a second-line therapy for large B-cell lymphoma: a paradigm shift? *Blood* 139:2737–2746
- Xin T et al (2022) In-vivo induced CAR-T cell for the potential breakthrough to overcome the barriers of current CAR-T cell therapy. *Front Oncol* 12:809754

- Yamanaka S (2020) Pluripotent stem cell-based cell therapy-promise and challenges. *Cell Stem Cell* 27:523–531
- Zhang J et al (2022) Non-viral, specifically targeted CAR-T cells achieve high safety and efficacy in B-NHL. *Nature* 609:369–374
- Zhang DKY et al (2023) Enhancing CAR-T cell functionality in a patient-specific manner. *Nat Commun* 14:506
- Zhu F et al (2018) Closed-system manufacturing of CD19 and dual-targeted CD20/19 chimeric antigen receptor T cells using the CliniMACS Prodigy device at an academic medical center. *Cytotherapy* 20:394–406

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Spotlight: Die Regulation von Arzneimitteln für neuartige Therapien (ATMP) – Rahmen und Unterstützung für die Entwicklung sicherer und wirksamer ATMP

Jürgen Scherer und André Berger

Das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) ist als Bundesoberbehörde zuständig für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel wie z. B. monoklonale Antikörper, Blut- und Gewebesubereitungen, aber auch für Arzneimittel für neuartige Therapien, kurz ATMP („Advanced Therapy Medicinal Products“) genannt.

9.1 Einleitung

Mit dem Oberbegriff „ATMP“ werden 3 Arzneimittelgruppen zusammengefasst: (1) Gentherapeutika (GTMP), bei denen eine rekombinante Nukleinsäure (DNA oder RNA) als Wirkstoff des Arzneimittels verwendet wird; als Beispiel wären hier Genfähren zur Korrektur von Gendefekten zu nennen, aber auch Zellen wie die sog. CAR-T-Zellen, die gezielt modifiziert wurden, um Tumorzellen zu attackieren (siehe Blache et al., Kap. 8); (2) somatische Zelltherapeutika (sCT), bei denen Zellen/Gewebe, die substanziiell bearbeitet wurden oder die in einer anderen als ihrer ursprünglichen Funktion eingesetzt werden, physiologisch auf den Körper einwirken, wie z. B. immun-modulatorische Zellen, und (3) biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte („tissue engineering products“, TEP). Bei TEP werden die bearbeiteten Zellen zur Regeneration oder zum Ersatz eines menschlichen Gewebes angewendet. Beispiele sind kultivierte Knorpelzellen zur Knorpelregeneration oder Stammzellen zur Regeneration der Augenhornhaut nach Verbrennungen. Von einem kombinierten ATMP spricht man, wenn Zelltherapeutika/TEP mit einem Medizinprodukt (z. B. einer künstlichen Membran) kombiniert werden.

Das Feld der ATMP entwickelt sich sehr schnell und dynamisch, nicht zuletzt aufgrund der großen technologischen und wissenschaftlichen Fortschritte auf dem Gebiet der Biotechnologie und der Medizin. ATMP bieten mit ihren „genetischen“ oder

J. Scherer · A. Berger (✉)
Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Deutschland
e-mail: Andre.Berger@pei.de

„zellulären“ Wirkmechanismen vielfältige und neue Möglichkeiten zur Arzneimittelentwicklung, insbesondere auch für Krankheiten mit bisher unzureichenden oder nicht verfügbaren Therapieoptionen. In vielen Fällen erscheint auch eine Behebung der Krankheitsursachen möglich; es können mit ATMP sogar Heilungschancen eröffnet werden, z. B. wenn ein ursächlicher Gendefekt korrigiert werden kann.

9.2 Die Entwicklung von ATMP ist herausfordernd

Diese neuen und komplexen Wirkmechanismen stellen aber auch eine besondere Herausforderung für die Arzneimittelentwicklung und die regulatorische Bewertung und Überwachung dar, sowohl hinsichtlich der Herstellung dieser Arzneimittel als auch der Gewinnung relevanter nicht klinischer und klinischer Daten sowie der darauf basierenden behördlichen Bewertung von Sicherheit und Wirksamkeit.

Insbesondere für aus körpereigenen Zellen hergestellte (autologe) ATMP gestaltet sich angesichts der möglichen patientenspezifischen Unterschiedlichkeit des Ausgangsmaterials die Etablierung einer konsistenten Herstellung nicht einfach. Wird ein ATMP z. B. über eine Vermehrung und Veränderung von Zellen eines einzelnen Patienten hergestellt, so können diese ein vom Individuum abhängiges, deutlich unterschiedliches Wachstums- und Entwicklungsverhalten zeigen. Die Herstellung muss gemäß der Guten Herstellungspraxis („Good Manufacturing Practice“, GMP) erfolgen. Da bei der Herstellung von Gen- und Zelltherapeutika viele Besonderheiten zu beachten sind, wurden für diese Produkte speziell angepasste GMP-Regularien entwickelt. Die Prüf- und Kontrollverfahren zur Sicherung der Qualität sind i. d. R. deutlich komplexer als für einfache chemische Moleküle. Diese spezifischen Anforderungen spiegeln sich in zahlreichen europäischen Leitfäden zu den verschiedenen Qualitätsaspekten und ATMP-Produktgruppen. Vor allem ist es wichtig, die für die therapeutische Wirkung verantwortlichen Eigenschaften der Zellen messbar zu machen. Der Herstellungsprozess und die festgelegten Inprozesskontrollen und Spezifikationen müssen geeignet sein, eine gleichbleibende Qualität und Wirksamkeit („potency“) des Produktes sicherzustellen, um so das Arzneimittel für die Anwendung freigeben zu können.

Es ist ebenso herausfordernd und bedarf meist erheblicher Zeit, die Sicherheit und Wirksamkeit eines ATMP zu erforschen und zu belegen. Vor der ersten Anwendung eines ATMP in einer klinischen Prüfung beim Menschen müssen die Entwickler in nicht klinischen Untersuchungen u. a. das Wirkprinzip untermauern („proof of concept“) und mögliche schädliche Wirkungen und Toxizitäten untersuchen. Oft sind keine vollständig geeigneten Tiermodelle verfügbar, sodass die relevanten nicht klinischen Aspekte mosaikartig in verschiedenen Tiermodellen (in vivo) und/oder Laborversuchen (in vitro) untersucht werden müssen. Die Problematik wird z. B. deutlich bei autologen zellbasierten ATMP, die als Menschenzellen im Tier zu einer unerwünschten Immunantwort und schnellen Zerstörung der Zellen führen können, sodass sich die gewünschten Wirkungen im Tier nicht entfalten bzw. nur eingeschränkt untersucht werden können. Geeignete In-vitro-Ansätze können

dann genutzt werden, um die relevanten Zellprozesse und -wirkungen zu modellieren.

Für das auf den nicht klinischen Daten basierende klinische Entwicklungsprogramm, d. h. die Durchführung genehmigungspflichtiger klinischer Prüfungen, gelten grundsätzlich die gleichen Regularien wie für andere Arzneimittel. Das Design einer klinischen Prüfung erweist sich aber häufig als schwierig hinsichtlich klinisch sinnvoller Messpunkte und -methoden (Endpunkte), der Auswahl einer geeigneten Patientenkontrollgruppe, der Verblindung¹ und auch der Dauer der Prüfung. Gerade regenerative Prozesse erfolgen häufig sehr langsam, sodass die Wirksamkeit eines ATMP erst nach mehreren Jahren sichtbar sein kann. Aber auch die Sicherheit, und hier vor allem die möglichen unerwünschten Langzeitauswirkungen, bedürfen einer sorgfältigen Untersuchung, weil bestimmte Zellen oder Nucleinsäuren lange im Körper des Patienten überdauern können und in manchen Fällen auch sollen.

9.3 Prüfung und Zulassung von ATMP durch die Arzneimittelbehörden

Liegen entsprechende klinische Daten zur Sicherheit und Wirksamkeit vor, kann ein Zulassungsantrag bei der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) gestellt werden. In diesem zentralisierten EMA-Verfahren erfolgt die Bewertung, indem zwei nationale Arzneimittelbehörden in der EU, wie das PEI, eine unabhängige Bewertung des ATMP vornehmen. Diese wird dann in einem speziellen ATMP-Expertengremium (Committee for Advanced Therapies, CAT), in dem alle EU-Arzneimittelbehörden vertreten sind, diskutiert und verabschiedet. Nach Abstimmung mit dem Ausschuss für Humanarzneimittel (Committee for Human Medicinal Products, CHMP) geht eine Entscheidungsempfehlung an die Europäische Kommission, die im positiven Fall dem ATMP eine Marktzulassung für die gesamte EU erteilt. Das PEI mit seiner biomedizinischen Expertise ist in beiden Ausschüssen CAT und CHMP aktiv vertreten und übernimmt häufig die Rolle eines Berichterstatters.

Eine besondere Schwierigkeit im Zulassungsverfahren für ATMP ergibt sich daraus, dass ATMP häufig für seltene Leiden entwickelt werden und damit keine großen Patientenkollektive untersucht werden können. Studienergebnisse von kleinen Patientengruppen werden stärker von den individuellen Krankheitsverläufen der Patienten beeinflusst, sodass es einer intensiven und eingehenden Analyse der Daten bedarf, um die Wirksamkeit des Arzneimittels zu bewerten. Manchmal bleiben dabei spezifische Fragen zu Wirksamkeits- und Sicherheitsaspekten offen und weitere Untersuchungen sind notwendig. Wenn aber die vorliegenden Informationen auf Basis des erwartbaren Nutzens und der möglichen Risiken dennoch eine positive

¹ Bei einer Doppelverblindung wissen weder Prüfling noch der behandelnde Arzt, ob das Prüf- oder das Kontrollpräparat angewendet wird. Dies dient dazu, die Wirkungen der Präparate zunächst völlig neutral und unvoreingenommen zu erfassen. Später werden die Daten dann entblindet und Unterschiede zwischen Prüf- und Kontrollpräparat können objektiv analysiert werden.

Bewertung eines ATMP erlauben, kann ein solches ATMP bereits als Therapieoption für Patienten verfügbar gemacht werden, indem eine eingeschränkte Zulassung („conditional approval“) erteilt wird, während zugleich weitere Untersuchungen angeordnet werden. Bei der Nutzen-Risiko-Bewertung werden alle relevanten Aspekte eines ATMP einbezogen und gegeneinander abgewogen. Dies beinhaltet auf der einen Seite klinisch messbare Befunde wie z. B. die Überlebensdauer bei einer Tumorerkrankung, aber auch subjektiv vom Patienten wahrgenommene Wirkungen wie die Verbesserung der Lebensqualität, und auf der anderen Seite die Schwere, Dauer und Häufigkeit der Nebenwirkungen.

9.4 Verfügbarkeit von ATMP

In einer großen Erwartungshaltung hat man anfänglich die oben dargestellten Schwierigkeiten, ein ATMP bis zur Marktreife zu entwickeln, unterschätzt. Auch wenn bereits 2 Jahre nach der Etablierung der gesetzlichen Regularien im Jahr 2007 das erste ATMP zugelassen wurde, dauerte es doch einige Zeit, bis weitere ATMP für Patienten verfügbar wurden. Aktuell besteht für 18 ATMP eine zentralisierte europäische Zulassung. Bei 14 dieser ATMP handelt es sich um Gentherapeutika, zumeist mit onkologischen Indikationen. Aber auch bereits 2 GTMP zur Behandlung der Hämophilie wurden zugelassen. 15 der 18 zugelassenen ATMP sind Arzneimittel für seltene Leiden.²

Eine ganze Reihe von geplanten Zulassungsanträgen konnten letztlich nicht eingereicht werden oder mussten nach Antragstellung zurückgenommen werden, da die Sicherheit und Wirksamkeit des ATMP mit den verfügbaren klinischen Daten nicht hinreichend belegt werden konnte. Dies unterstreicht, dass die Gewinnung adäquater Daten für eine Zulassung eine herausfordernde Aufgabe ist.

Für einige ATMP wurde die bereits erteilte Zulassung anschließend vom Zulassungsinhaber (MAH) zurückgenommen. Hier spielt die Kostenerstattung eine gewichtige Rolle (siehe Alex/König, Kap. 22). Können mit den zuständigen Erstattungsstellen in den EU-Mitgliedsstaaten keine aus Sicht des Zulassungsinhabers adäquaten Preise vereinbart werden, so kann dies zum Aufgeben einer Zulassung führen. Dies macht deutlich, dass allein die Zulassung eines ATMP in der EU nicht automatisch zu dessen Verfügbarkeit in einem nationalen Markt führt.

Neben diesem durchaus zeit- und arbeitsintensiven, europäisch zentralisierten Zulassungsverfahren besteht für patientenspezifische ATMP eine weitere Option für einen Marktzugang über die sog. „Hospital Exemption“ (§ 4b AMG, Arzneimittelgesetz), die aber nicht nur für Krankenhäuser anwendbar ist. Grundsätzlich kann das PEI in nationaler Zuständigkeit die Abgabe solcher patientenspezifischer ATMP genehmigen, die qualitätsgerecht (GMP) und nicht routinemäßig hergestellt werden und

²Als seltene Leiden im Sinne dieser Definition werden lebensbedrohliche oder chronisch einschränkende Erkrankungen zusammengefasst, die einer speziellen Behandlung bedürfen. In Bezug auf ihre Häufigkeit gibt es kleine Unterschiede zwischen den Maßgaben in verschiedenen Staaten bzw. Regionen. In der EU werden Krankheiten mit einer Erkrankungshäufigkeit von 1 Patient je 2.000 Personen (oder weniger) darunter erfasst. Auf Deutschland übertragen bedeutet das, dass eine Krankheit als selten gilt, wenn es weniger als 42.000 Betroffene gibt.

für die hinreichende Informationen zur Wirkungsweise, der voraussichtlichen Wirkung und den möglichen Risiken vorliegen. Dies soll die Entwicklung solcher ATMP unterstützen und Ärzten und Patienten einen frühzeitigen Zugang zu vielversprechenden Therapieoptionen ermöglichen. Derzeit (Stand Juni 2023) bestehen in Deutschland für sechs TEP und zwei somatische Zelltherapeutika derartige Genehmigungen.³

9.5 Genehmigung klinischer Prüfungen mit ATMP

Bereits vor der Zulassung spielt das PEI eine bedeutende Rolle bei der ATMP-Entwicklung, indem es zum einen Entwickler zu den regulatorischen Anforderungen berät und zum anderen über die Genehmigung von klinischen Prüfungen mit ATMP in Deutschland entscheidet. Der Umfang dieser Aktivitäten ist ganz erheblich, da sich sehr viele ATMP in der Entwicklung befinden, verglichen mit den 18 erteilten Zulassungen. Während die jährlichen, zentralisierten ATMP-Zulassungsanträge laut EMA-Jahresbericht auf niedrigem Level schwanken (2019: 2; 2020: 8; 2021: 3; 2022: 1),⁴ liegt die Anzahl der in Deutschland beantragten klinischen Prüfungen mit ATMP konstant auf dem hohen Niveau von 50–70 Anträgen pro Jahr (siehe Abb. 9.1). Trotz der genannten Schwierigkeiten der Marktetablierung ist das Interesse der Arzneimittelentwickler an ATMP also nach wie vor groß, was nicht ver-

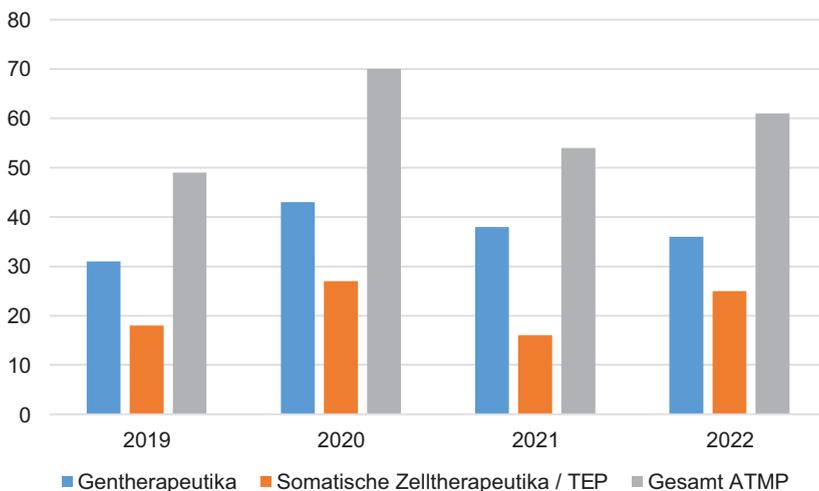


Abb. 9.1 Jährliche Anträge auf Genehmigung einer klinischen Prüfung mit ATMP durch das Paul-Ehrlich-Institut in Deutschland

³Die zugelassenen und genehmigten ATMP finden sich auf der Homepage des PEI: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/atmp-node.html> [15.06.2023].

⁴Siehe unter: https://www.ema.europa.eu/documents/annual-report/2022-annual-report-european-medicines-agency_en.pdf [24.05.2023].

wundert angesichts ihres Potenzials, für viele Erkrankungen wertvolle neue Behandlungsoptionen zu schaffen oder gar Heilungsmöglichkeiten zu eröffnen.

9.6 Beratungsangebote zur Unterstützung der Entwicklungsarbeiten

Um die Entwicklung eines ATMP im Einklang mit den Regularien möglichst zügig und effizient gestalten zu können, bietet das PEI den Entwicklern Beratungen an. Das Beratungsangebot des PEI ist hierbei auf die verschiedenen Stadien der Entwicklung angepasst und beginnt bereits in frühen Phasen der Entwicklung. Sog. Orientierungsgespräche geben mit regulatorischen Vorgängen weniger vertrauten Entwicklern, oftmals aus nicht kommerziellen, akademischen Institutionen, wichtige Hinweise zum regulatorischen Umfeld und den grundlegenden regulatorischen Bewertungsprinzipien. Während der Produktentwicklung werden dann im Rahmen von wissenschaftlichen Beratungsgesprächen ganz spezifische wissenschaftliche Fragestellungen und Probleme im Vorfeld einer Antragstellung für die Genehmigung einer klinischen Prüfung diskutiert. Die Erläuterung und Diskussion der regulatorischen Anforderungen soll dem Entwickler beispielsweise bei der Konzeption der nicht klinischen Studien u. a. hinsichtlich der Wahl des Tiermodells, der Studiendauer und der zu untersuchenden Parameter helfen. Damit kann vermieden werden, dass nicht aussagekräftige, unzureichende bzw. unnötige Untersuchungen durchgeführt werden. Auch die bereits erwähnten kritischen Aspekte in Bezug auf Kontrollen bzw. Tests während und am Ende der Herstellung, aber auch zum beabsichtigten klinischen Studienprotokoll sollten frühzeitig in Beratungen erörtert werden. Dies hilft entscheidend mit, dass Anträge für die Durchführung klinischer Prüfungen mit ATMP möglichst genehmigungsreif eingereicht werden können. Die Notwendigkeit, genehmigungsreife Anträge zu stellen, hat sich mit der Einführung neuer EU-weiter Genehmigungsfristen Anfang 2023 verschärft. Im Rahmen des Genehmigungsverfahrens stehen Antragstellern nur noch 12 anstatt 90 Tage zur Verfügung, um kritische Punkte zu adressieren und Einwänden der Genehmigungsbehörden Rechnung zu tragen. Bleiben dabei offene Punkte, so war es bislang möglich, eine „aufschiebende Genehmigung“ zu erteilen, also eine Genehmigung, die erst nach anschließendem Erfüllen der behördlich festgelegten Bedingungen gültig wurde. Diese Option wurde von Antragstellern gegenüber einer Ablehnung zumeist als positiv begrüßt, ist im neuen Rechtsrahmen aber nicht mehr vorgesehen, und es muss eine Ablehnung des Antrags erfolgen. Es wird sich zeigen müssen, ob diese Vorgabe des EU-Rechts dem Ziel gerecht wird, die Durchführung klinischer Prüfungen zu fördern und ihre Genehmigung zu beschleunigen.

Die Beratungsstatistik für ATMP zeigt, dass das Jahr 2019 ein Beratungshoch für ATMP war; in den COVID-Pandemiejahren ging die Beratungsnachfrage um gut 30 % zurück (siehe Abb. 9.2). Für das Jahr 2023 zeichnet sich wieder eine starke

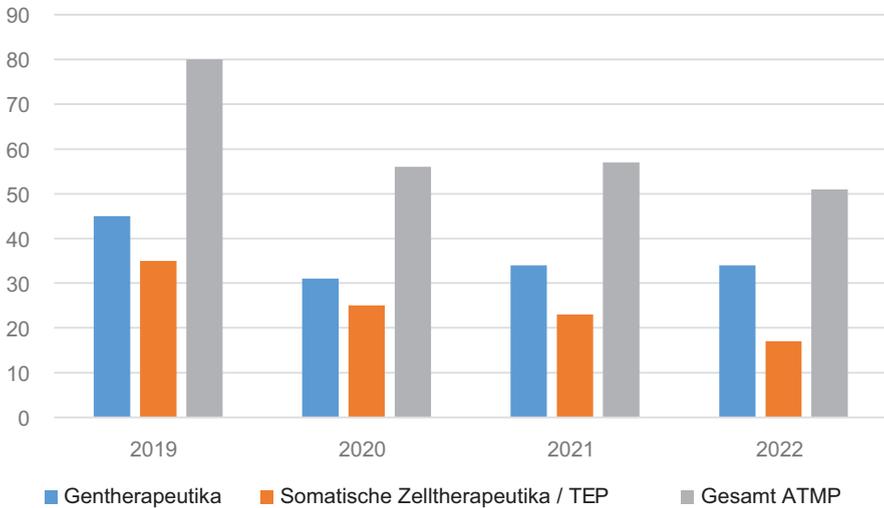


Abb. 9.2 Jährliche wissenschaftliche Beratungen zu ATMP durch das Paul-Ehrlich-Institut

Zunahme der Beratungsnachfrage ab. In den ersten 5 Monaten dieses Jahres gingen beim PEI bereits 50 Beratungsanfragen zu ATMP ein, sodass eine ähnliche oder sogar höhere Zahl im Vergleich zu 2019 erwartet werden kann.

Neben frühzeitigen Beratungen beim PEI sollten Entwickler auch die Landesbehörden rechtzeitig kontaktieren, die mit der Erteilung der Herstellungserlaubnis eine wichtige Eingangsvoraussetzung für den Beginn klinischer Prüfungen schaffen. Bei den zur Erteilung einer Herstellungserlaubnis durchgeführten Inspektionen der Landesbehörden unterstützt das PEI, indem es Sachverständige für die jeweiligen ATMP zur Verfügung stellt. Auf diese Weise können ATMP-spezifische Aspekte, die sowohl bei Erteilung der Herstellungserlaubnis als auch Genehmigung der klinischen Prüfung von Bedeutung sind, übergreifend berücksichtigt werden.

9.7 Ausblick

Die Entwicklung vieler ATMP steht erst am Anfang und es ist zu erwarten, dass in Zukunft viele weitere ATMP für die Behandlung von Patienten zur Verfügung stehen werden; in manchen Fällen könnte sich sogar eine Chance auf Heilung einer Erkrankung bieten. Die zell- bzw. genbasierten Wirkmechanismen der ATMP sind dabei mit besonderen Herausforderungen verbunden und die Entwicklung bedarf einer frühzeitigen und intensiven Zusammenarbeit der Entwickler und der regulatorischen Behörden. Der regulatorische Rahmen dafür ist vorhanden und geeignet, die Entwicklung und Zulassung sicherer und wirksamer ATMP zu unterstützen.

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Immuntherapie mit CAR-T-Zellen: der Durchbruch in der Krebsbehandlung

10

Dennis Christoph Harrer und Hinrich Abken

10.1 Einleitung: Immunzellen können Krebserkrankungen zurückdrängen

Der adoptive Transfer natürlich vorkommender tumorspezifischer T-Zellen wird seit mehr als einem Vierteljahrhundert bei Patienten mit schwarzem Hautkrebs (Melanom) erfolgreich eingesetzt. Beim adoptiven Transfer von T-Zellen werden lebende autologe (d. h. patienteneigene) T-Zellen oder allogene (patientenfremde) T-Zellen von passenden Spendern bzw. Patienten übertragen. Der Grundgedanke ist dabei, dass tumorspezifische T-Zellen, die den Hautkrebs infiltrieren, nach Isolierung und Vermehrung im Labor (in vitro) ihre Antitumoraktivität wiedererlangen und den Tumor zerstören können (Guedan et al. 2019). In vielen Fällen konnte bei dieser Form der individualisierten Therapie mit patienteneigenen tumorinfiltrierenden T-Zellen (tumorinfiltrierende Lymphozyten, TILs) eine anhaltende Tumorregression erzeugt werden. Immer mehr Daten deuten darauf hin, dass die Tumorregression nach TIL-Therapie auf der Erkennung tumorassoziierter oder neuer Antigene (Neoantigene) im Tumor beruht (Guedan et al. 2019). Tumorassozierte Antigene sind beispielsweise MART-1 und gp100 beim Melanom sowie CEA beim Darm- und Bauchspeicheldrüsenkrebs. Während beim Melanom die TIL-Therapie Erfolge erzielt, ist die breite Anwendung bei den meisten Tumoren jedoch begrenzt, da häufig die Tumoren nur von einer geringen Anzahl von TILs, wenn überhaupt, infiltriert werden und die Expression von Neoantigenen in den Tumoren selten und darüber hinaus sehr heterogen ist.

D. C. Harrer

Klinik für Innere Medizin III, Hämatologie und internistische Onkologie,
Universitätsklinikum Regensburg, Regensburg, Deutschland

H. Abken (✉)

Abt. Gen-Immuntherapie, Leibniz Institut für Immuntherapie, Regensburg, Deutschland
e-mail: hinrich.abken@ukr.de

10.2 Eine neue Ära in der Immuntherapie: genetisch modifizierte Immunzellen

Um Therapien auch unabhängig von natürlich vorkommenden tumorspezifischen T-Zellen durchführen zu können, wurden Strategien entwickelt, den T-Zellen aus dem peripheren Blut *in vitro* eine definierte Tumorspezifität zu verleihen. Das wurde dadurch erreicht, dass die T-Zellen mit einem tumorantigen-spezifischen T-Zellrezeptor (TZR) ausgestattet wurden, sodass die T-Zellen die Tumorzellen durch ihren neuen TZR erkennen und schließlich zerstören können (Guedan et al. 2019). Dies erfolgt durch genetische Modifikation der T-Zellen, wozu die Entwicklung geeigneter Gentransfertechnologien und Vektoren wesentlich beigetragen hat, wie beispielsweise geeignete γ -retrovirale,¹ lentivirale² oder adenovirale Vektoren³ oder auch nichtvirale Vektoren (Guedan et al. 2019). Die Erkennung der Tumorzellen durch den TZR ist von der Präsentation des Antigens durch den HLA (Humanes Leukozytenantigen)-Komplex abhängig, der allerdings sehr individualspezifisch ist, was den TZR auf die Patienten einschränkt, die das passende HLA-Repertoire tragen. Außerdem ist derzeit eine vergleichsweise geringe Anzahl von tumorspezifischen TZRs verfügbar, die zudem nur wenige Tumorentitäten erkennen.

10.3 Die Evolution der zellulären Immuntherapie geht weiter: synthetische Rezeptoren

10.3.1 Chimäre Antigenrezeptoren (CARs): universelle Werkzeuge für die zelluläre Krebsimmuntherapie

Aus der Limitierung der TZR-basierten T-Zelltherapie ergibt sich die Notwendigkeit, ein synthetisches Erkennungsmolekül zu entwerfen, das universell für eine Vielzahl von Patienten einsetzbar ist. Ende der 1980er-Jahre wurden erste Prototypen eines chimären Antigenrezeptors (CAR) entwickelt, die die Antigen-erkennung mithilfe eines Antikörpers und die T-Zellaktivierung durch eine Signaldomäne aus dem TZR in einem synthetischen Transmembranrezeptor vereinen (siehe Abb. 10.1) (Eshhar et al. 1993). Die antikörpervermittelte Bindung erlaubt die Erkennung einer Zielstruktur auf der Oberfläche von Tumorzellen unabhängig von der Präsentation in dem individuellen HLA-Kontext, was eine breitere Anwendung erlaubt. Der CAR der ersten Generation liefert das primäre Signal zur

¹ γ -Retroviren können genetische Informationen in Zellen übertragen und diese dort durch Integration in das Erbgut stabil verankern.

² Im Gegensatz zu γ -Retroviren können Lentiviren, die auch zur Familie der Retroviren gehören, Zellen infizieren, die ruhen und sich nicht in der Zellteilung befinden.

³ Adenoviren ermöglichen eine zeitlich begrenzte Übertragung von genetischer Information, da hier nach Infektion der Zielzellen keine stabile Verankerung durch Integration in das Erbgut erfolgt.

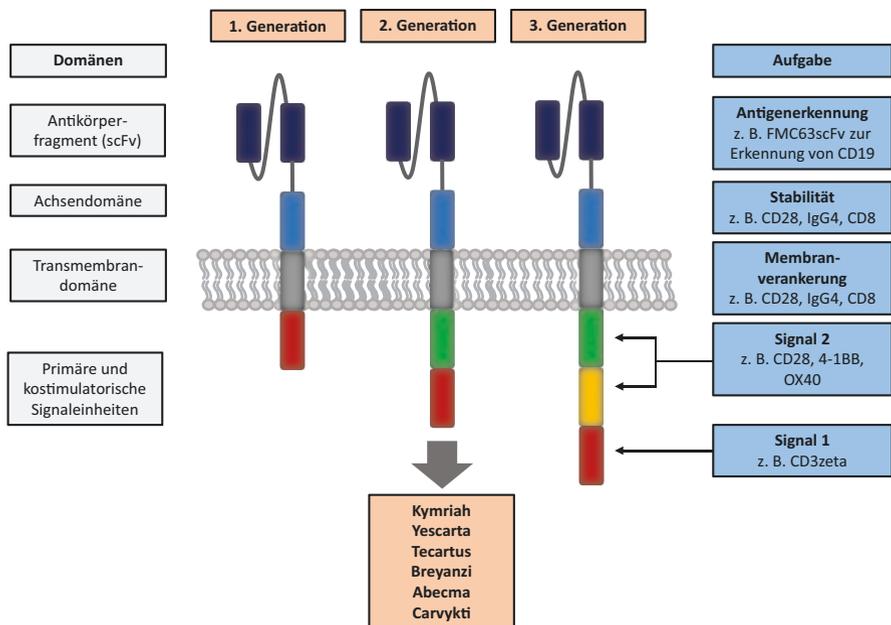


Abb. 10.1 Der modulare Aufbau der chimären Antigenrezeptoren (CARs) und die Funktionen der jeweiligen Module

T-Zellaktivierung (Signal-1); in den CARs der zweiten Generation ist zusätzlich eine kostimulatorische Einheit⁴ (Signal-2) integriert (Finney et al. 1998; Hombach et al. 2001), was eine anhaltende T-Zellaktivierung mit Zytokinfreisetzung, T-Zellvermehrung und anhaltender Persistenz zur Erzielung einer effektiveren Antitumorantwort ermöglicht. In CARs der dritten Generation sind zwei kostimulatorische Einheiten mit dem primären Signal verknüpft, um terminal differenzierte, gealterte T-Zellen zu aktivieren.

Der modulare Aufbau der CARs ermöglicht die Kombination von Erkennungseinheiten verschiedener Spezifitäten mit unterschiedlichen Signaleinheiten zur gezielten Modulation der Immunzellantwort. Insbesondere beeinflussen die kostimulatorischen Domänen die T-Zellaktivierung auf verschiedenen Ebenen. Beispielsweise vermittelt die CD28-Kostimulation eine „Sofort“-Antwort mit erhöhter Glukoseaufnahme, während die 4-1BB-Kostimulation die Bildung der Gedächtnis-T-Zellen (Central-Memory-T-Zellen) und deren langfristiges Überleben unterstützt.

Da viele Tumorzellen Defekte in Antigenpräsentation und Antigenprozessierung aufweisen, erweist sich die HLA-unabhängige Erkennung von Zielstrukturen mithilfe eines Antikörpers als entscheidender Vorteil. Auch können dadurch nicht-

⁴Die kostimulatorische Einheit bewirkt eine Verstärkung des aktivierenden Signals, ist Teil des CARs der „zweiten Generation“ und kann je nach Art der kostimulatorischen Domäne, z. B. CD28 oder CD137, die Funktionalität der CAR-T-Zelle modulieren.

klassische T-Zellantigene erkannt werden wie Carbohydrate, Lipide oder Strukturvarianten eines Antigens, was das Spektrum potenzieller Ziele erheblich erweitert. Um Antigene auch im Inneren der Zielzellen zu erkennen, wurden CARs generiert, deren Bindedomäne HLA-präsentierte Peptide (kleine Eiweißfragmente, die durch intrazelluläre Zerstückelung großer Proteine durch spezialisierte Enzyme entstehen) erkennen, z. B. NY-ESO-1 im HLA-A2, sodass eine TZR-ähnliche Erkennung ermöglicht wurde (Stewart-Jones et al. 2009). Neben Antikörpern können auch andere natürliche Liganden, d. h. Zielstrukturen, die spezifisch an einen Rezeptor binden, als Bindedomänen genutzt werden wie Zytokine, Zytokinrezeptoren oder DARPins („designed ankyrin repeat proteins“). Während für die T-Zellaktivierung Signal-domänen des TZR genutzt werden, sind für die Aktivierung von natürlichen Killer(NK)-Zellen oder Makrophagen (Fresszellen) andere Signaldomänen wie DAP10 optimal.

10.3.2 CARs mit mehreren Spezifitäten erlauben die Erkennung eines Musters von Zielstrukturen auf Tumoren

Antigenverlust auf Tumoren während der Therapie stellt einen häufigen Grund für ein Tumorrezidiv, d. h. die Rückkehr eines Tumors, dar. Deswegen wird das Ziel verfolgt, die T-Zellen auf mehrere tumorassoziierte Antigene zu richten, um den Tumor langfristig kontrollieren zu können. Dies wird durch sog. bispezifische CARs erreicht, die gleichzeitig zwei verschiedene Bindedomänen „in tandem“ tragen („TanCAR“), sodass die CAR-T-Zelle zwei verschiedene Antigene auf Zielzellen unabhängig voneinander erkennen kann. In der klinischen Erprobung sind derzeit bispezifische CARs, die beispielsweise CD20-CD19 (Shah et al. 2020), CD22-CD19 (Spiegel et al. 2021) oder auch CD19-CD123 binden können (Ruella et al. 2016).

In Erweiterung der Strategie können CARs auch dazu genutzt werden, definierte Antigenmuster zu erkennen (Wilkie et al. 2012). Dies ist dann von Bedeutung, wenn kein tumorselektives Antigen vorliegt und das Risiko besteht, dass gesunde Zellen ebenfalls angegriffen werden. Deswegen wird angestrebt, dass nur Zellen mit zwei definierten Antigenen, nicht jedoch Zellen mit nur einem Antigen, angegriffen werden. Dies wird dadurch erreicht, dass die T-Zelle mit zwei CARs ausgestattet wird, wobei die CARs unterschiedliche Spezifitäten haben und ein CAR das primäre Signal (Signal-1) und der zweite CAR das kostimulatorische Signal (Signal-2) vermittelt. Die jeweiligen Signale komplementieren nur dann zur T-Zellaktivierung, wenn beide Antigene zugleich gebunden werden; die Bindung eines Antigens ist nicht ausreichend. Alternativ wurde ein sog. „synNotch“-Rezeptor entwickelt, der nach Antigenbindung einen zweiten CAR exprimiert, der zur Tumorzellerkennung beiträgt (Roybal et al. 2016). Die Kombinatorik komplementierender CARs erlaubt es auch, im umgekehrten Fall ein hemmendes Signal dann auszulösen, wenn beide Antigene erkannt werden, um eine Zelle, die beide Zielstrukturen trägt, zu verschonen.

10.3.3 „Universal CARs“

In dem klassischen CAR-Design muss für die Erkennung einer neuen Zielstruktur stets ein neuer CAR und damit ein neues CAR-T-Zellprodukt generiert werden. Dies stellt bei der dynamischen Entwicklung des Tumors und seiner Antigene während der Therapie eine besondere Herausforderung dar. Um diese Situation zu adressieren, wurden sog. „universal CARs“ entwickelt, die per se keine Tumorantigene erkennen, jedoch ihre Spezifität durch Bindung eines tumorspezifischen Antikörpers erhalten. Der CAR erkennt ein Epitop,⁵ das an den tumorspezifischen Antikörper gekoppelt worden ist, z. B. ein Peptid (Cartellieri et al. 2016) oder Avidin⁶ (Urbanska et al. 2012); durch Bindung des Antikörpers erhält der CAR seine Tumorspezifität. Diese Strategie ermöglicht eine flexible Antwort, sodass durch einen Antikörpercocktail dem CAR verschiedene Spezifitäten zugeordnet werden können. Dies ist dann von Vorteil, wenn Spezifitäten gewechselt werden müssen, sobald Rezidive mit Tumorzellen auftreten, die das primäre Zielantigen verloren haben. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass bei unerwarteter CAR-T-Zelltoxizität die Gabe der Antikörper reduziert oder gestoppt werden kann, sodass der CAR gesunde Gewebe nicht weiter schädigen kann.

10.4 CAR-T-Zellen werden lebende Fabriken: Produktion von Pharmazeutika im Patienten

Der große Vorteil der CAR-T-Zelltherapie besteht darin, dass eine Immunantwort spezifisch am Ort der Zielerkennung initiiert wird. CAR-T-Zellen können jedoch auch dazu genutzt werden, ein pharmazeutisch wirksames Protein dann freizusetzen, wenn sie ihr Zielorgan im Patienten erreicht haben. Für diese Zwecke werden T-Zellen mit einem CAR ausgestattet und zusätzlich mit einer induzierbaren Expressionskassette für die Freisetzung eines therapeutischen Proteins als „Nutzlast“. Bei CAR-Aktivierung durch Bindung an die Zielstruktur wird das therapeutische Protein produziert und freigesetzt; eine Beendigung der CAR-Aktivierung führt zum Stopp der Proteinproduktion und Freisetzung. Diese sog. TRUCKs („T cells redirected for unrestricted cytokine-mediated killing“) bilden die „vierte Generation“ der CARs und haben den Vorteil, dass das transgene Protein lokal in hoher Konzentration im Zielgewebe abgelagert wird bei gleichzeitiger Vermeidung einer systemischen Toxizität (Chmielewski et al. 2014). Dadurch werden CAR-T-Zellen zu „lebenden Fabriken“, die eine zielgerichtete und kontinuierliche Applikation eines Pharmazeutikums ermöglichen. Dieses könnte die klassische pharmazeutische Therapie, solange sie mit systemischen Nebenwirkungen behaftet ist, erheblich verändern.

⁵ Der Begriff „Epitop“ beschreibt die Zielstruktur eines Antigens, die von einem Antikörper, oder hier einem CAR, gebunden wird.

⁶ Avidin ist ein Eiweißstoff, der die Fähigkeit besitzt, Biotin (Vitamin B7) zu binden.

Beispiele für „Nutzlasten“ von TRUCKs sind transgene Zytokine, Antikörper oder Immuncheckpointinhibitoren zur gezielten Modulation des suppressiven Tumormilieus. Ein Beispiel ist IL-12, das bei systemischer Verabreichung hochtoxisch ist, bei lokaler Produktion jedoch mit einer tolerierbaren Toxizität verbunden zu sein scheint und in experimentellen Modellen eine Wirksamkeit gegen Tumoren aufweist (Chmielewski et al. 2011). Lokal produziertes IL-12 rekrutiert und aktiviert zudem Makrophagen, die diejenigen Tumorzellen eliminieren, die ihre Zielstrukturen verloren haben und der spezifischen Immunüberwachung entgangen sind (Chmielewski et al. 2011). TRUCKs, die IL-18 freisetzen, verbessern erheblich die Antitumoraktivität von T-Zellen (Chmielewski und Abken 2017). CAR-T-Zellen, die lokal einen PD-1-blockierenden (Rafiq et al. 2018) oder PD-L1-blockierenden (Suarez et al. 2016) Antikörper produzieren, wirken der immunsuppressiven Tumorumgebung entgegen, ohne die systemische Immunität zu beeinträchtigen.

10.5 Die Herstellung von CAR-T-Zellen als patientenindividualisierter Prozess

CAR-T-Zellen werden individuell für jeden Patienten in einem aufwendigen Prozess entsprechend den Anforderungen der „Guten Herstellungspraxis“ („Good Manufacturing Practice“, GMP) hergestellt. Der Herstellungsprozess für CAR-T-Zellen dauert 7 bis 22 Tage, in der Regel 12 Tage, und wird manuell oder auch zunehmend automatisiert in geschlossenen Systemen durchgeführt (Köhl et al. 2018). Der Patient spendet seine T-Zellen mithilfe einer Leukapherese, der maschinellen Sammlung von Immunzellen aus dem Blut, daraus werden die T-Zellen isoliert und anschließend zur Expression des jeweiligen CARs genetisch modifiziert, expandiert, formuliert und schließlich dem vorbehandelten („lymphodepletierten“) Patienten wieder infundiert (siehe Abb. 10.2).

In der überwiegenden Mehrzahl der klinischen Anwendungen werden für die genetische Modifikation der T-Zellen retro- oder lentivirale Vektoren eingesetzt, die im Vorfeld in großen Mengen hergestellt werden können und die sich als hoch-effizient erwiesen haben (Levine et al. 2017). Alternativ werden virusfreie, transposonbasierte Vektoren wie „Sleeping Beauty“ oder „PiggyBac“ verwendet (Holzinger und Abken 2022). Das Transposon vermittelt eine stabile Integration von DNA-Sequenzen in das Wirtsgenom, wobei das Transposase-Enzym oder dessen codierende RNA zusammen mit der Transposon-DNA, die für den CAR codiert, durch Transfektion⁷ oder Elektroporation⁸ in die Zielzelle eingebracht wird. Die CARAMBA-Studie⁹ ist ein Beispiel, bei dem CAR-T-Zellen durch Transposontech-

⁷Bei der Transfektion verschmelzen speziell verpackte Nukleinsäuren mit der Membran der Zielzelle und werden anschließend in der Zelle freigesetzt.

⁸Bei der Elektroporation werden Nukleinsäuren in Zellen transferiert, nachdem mithilfe elektrischer Spannung die Membran der Zielzelle kurzzeitig durchlässig gemacht wurde.

⁹Siehe NCT04499339: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04499339> [21.07.2023].

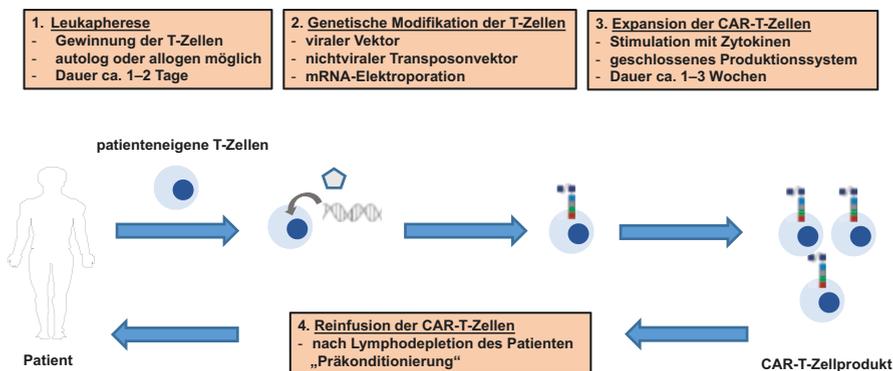


Abb. 10.2 Die Herstellung des CAR-T-Zellprodukts ist ein Mehrstufenprozess, der mit der Gewinnung der patienteneigenen T-Zellen beginnt und die genetische Modifikation der T-Zellen und deren anschließende Vermehrung in vitro umfasst

nologie hergestellt werden. Eine Erwartung für virusfreie Gentransfersysteme liegt darin, dass Herstellungskosten erheblich gesenkt werden können, da deren Produktion im Vergleich zu viralen Vektoren weniger zeit- und arbeitsintensiv ist.

T-Zellen können durch Übertragung von mRNA, die für den CAR codiert, ebenfalls modifiziert werden. Dabei wird die RNA durch einen elektrischen Puls (Elektroporation) in die T-Zelle übertragen. RNA-modifizierte T-Zellen haben im Gegensatz zu viral veränderten T-Zellen nur eine kurzfristige CAR-Expression, da die RNA in der Zelle schnell abgebaut wird. Die Persistenz der CAR-T-Zellen im Patienten ist deswegen sehr begrenzt, was eine wiederholte Applikation des CAR-T-Zellprodukts erforderlich macht (Beatty et al. 2018).

Es zeigte sich in den letzten Jahren, dass sich der Herstellungsprozess entscheidend auf die therapeutische Potenz der T-Zellen im Patienten auswirkt. Für die fortlaufende Optimierung des Herstellungsverfahrens kommt allerdings erschwerend hinzu, dass zahlreiche Variablen Einfluss auf die Qualität des finalen CAR-T-Zellprodukts haben, u. a. die Effizienz der genetischen Modifikation, die Stärke der CAR-Expression, die Anzahl der CAR-DNA-Kopien pro Zelle und der Reifungsgrad der CAR-T-Zellen. Basierend auf den klinischen Erfahrungen erscheinen naive oder junge „Central-Memory“-T-Zellen mit einer akut inflammatorischen Signatur für die Eliminierung von Tumoren besonders geeignet zu sein.

CAR-T-Zellen werden als „Arzneimittel für neuartige Therapien“ („Advanced Therapy Medicinal Products“, ATMP), eine Klasse innovativer, forschungsorientierter Biopharmazeutika, eingestuft (Hanna et al. 2016). Der rechtliche und regulatorische Rahmen für ATMPs wurde von der EU-Kommission mit der Richtlinie 2009/120/EG festgelegt (Köhl et al. 2018; Iglesias-López et al. 2019). Die Qualität, Sicherheit und Wirksamkeit von ATMPs werden vom Ausschuss für neuartige Therapien (CAT) der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) geprüft (Schneider et al. 2010). Dabei werden die CAR-T-Zellen innerhalb der ATMP-Kategorie als „Gentherapiearzneimittel“ (Gene Therapy Medicinal Pro-

duct, GTMP) klassifiziert (Hartmann et al. 2017). Das finale CAR-T-Zellprodukt versteht sich als genetisch modifizierte „lebende Zellen“ mit der Fähigkeit, Zielzellen spezifisch zu erkennen und mit einem definierten Programm von Effektorfunktionen darauf zu reagieren.

Die im Europäischen Arzneibuch (Europäische Pharmakopöe, Ph. Eur.) veröffentlichten Standards bilden die rechtliche und wissenschaftliche Grundlage für die Qualitätskontrolle der ATMPs in Europa. Dazu gehören u. a. der Nachweis der Zellidentität, der Ausschluss prozessbedingter Verunreinigungen, von Mykoplasmen, Endotoxin, mikrobiologischer Kontaminationen sowie von replikationskompetenten Retroviren/Lentiviren (RCRs/RCLs) (Köhl et al. 2018). Um die funktionalen Kapazitäten der CAR-T-Zellen zu erfassen, werden die CAR-Expression und die Freisetzung von Botenstoffen (Zytokinen) unter standardisierten Bedingungen bestimmt. Der Hersteller muss schließlich nachweisen, dass das Zellprodukt gleichbleibend in einer definierten Qualität hergestellt wird und dass das Produkt in der Anwendung sicher und wirksam ist. Um unerwünschte Langzeitwirkungen bei den behandelten Patienten zu erkennen, empfiehlt die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) eine Nachbeobachtungszeit der Patienten von 15 Jahren (Holzinger und Abken 2022).

Als autologes Zellprodukt werden die CAR-T-Zellen für jeden Patienten individuell hergestellt. Aufgrund des daraus resultierenden hohen Arbeitsaufwands werden große Anstrengungen unternommen, um das manuelle Herstellungsverfahren in einen vollautomatischen Herstellungsprozess für eine reproduzierbare und überwachte CAR-T-Zellproduktion umzuwandeln. Beispiele für Prozessautomaten sind der Bioreactor™ (Octane Biotech) (Iyer et al. 2018) oder der CliniMACS Prodigy™ (Miltenyi Biotec) (Kaiser et al. 2015). Mithilfe derartiger Geräte wird die dezentrale und standardisierte Herstellung von Patientenzellen am „Point-of-Care“ (POC), d. h. in der behandelnden Klinik, ermöglicht (Aleksandrova et al. 2019). Allerdings erfordert die dezentrale Herstellung ein in GMP-Prozessen kontinuierlich geschultes Personal. Die Gesamtkosten für den Betrieb einer GMP-Produktionseinheit sind hoch und für akademische Einrichtungen eine Herausforderung, die langfristig nur durch starke akademische Netzwerke geleistet werden kann. Letztendlich werden zwei Produktionslinien benötigt: die lokale Produktion in der behandelnden Klinik, um die Sicherheit und Wirksamkeit eines neuen T-Zellprodukts bei der ersten klinischen Anwendung zu evaluieren, und die zentralisierte Produktion, die eine Hochskalierung der Produktion bei gleichzeitiger Kosteneffizienz ermöglicht, wenn sich ein neues Produkt als wirksam und sicher erwiesen hat. Derzeit ist jedoch die klinische Anwendung von CAR-T-Zellprodukten noch auf spezialisierte Produktionseinheiten und Kliniken begrenzt.

10.6 Genomeditierte allogene CAR-T-Zellen

Die individualisierte Herstellung von patienteneigenen CAR-T-Zellen könnte möglicherweise durch allogene CAR-T-Zellen von gesunden Spendern ersetzt werden. Durch die Deletion des TZR wird die Fähigkeit der T-Zellen aufgehoben, Fremd-

antigene (allogene Antigene) zu erkennen, wodurch das Risiko einer Graft-versus-Host-Krankheit (GvHD)¹⁰ verringert wird. Um solche allogenen CAR-T-Zellen andererseits für das Wirtsimmunsystem weniger sichtbar zu machen, werden die MHC-Moleküle dieser Zellen durch Genome-Editing-Technologien ausgelöscht (Holzinger und Abken 2022). In ersten klinischen Studien wird die Sicherheit und Wirksamkeit von entsprechend veränderten allogenen anti-CD19-CAR-T-Zellen untersucht.¹¹ Die Behandlung von zwei Kindern mit rezidivierender, hochrefraktärer CD19⁺ B-ALL¹² mit TALEN-editierten, TZR-defizienten universellen CAR19(UCART19)-T-Zellen führte zu molekularen Remissionen, was die prinzipielle Machbarkeit dieses Ansatzes belegt (Qasim et al. 2017).

Während derzeit im klinischen Einsatz CAR-T-Zellprodukte aus T-Zellen des peripheren Blutes hergestellt werden, sind induzierte pluripotente Stammzellen („induced pluripotent stem cells“, iPSC) eine alternative Quelle, wobei man sich deren unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit zunutze macht (Mazza und Maher 2021). Ein aus iPSC hergestelltes CAR-T-Zellprodukt (FT819) wurde durch Reprogrammierung und gezielte Einfügung eines CD19-spezifischen CAR in beide Allele des TZR- α -Lokus¹³ erzeugt und befindet sich in der klinischen Erprobung.¹⁴

10.7 Klinische Erfolge und erste pharmazeutisch zugelassene CAR-T-Zellprodukte

Bis heute wurden mehr als 500 CAR-T-Zellstudien initiiert, die meisten in Ostasien, gefolgt von den USA und Europa. Mehr als die Hälfte dieser Studien zielt auf die Behandlung von B-Zellneoplasien (bösartige Erkrankungen abstammend von B-Zellen, z. B. Lymphdrüsenkrebs) ab, die meisten mit CD19-spezifischen CAR-T-Zellen. Eine immer noch geringe, aber wachsende Zahl von CAR-T-Zellstudien hat die Behandlung von soliden Tumoren zum Ziel (Schaft 2020). Derzeit gibt es sechs CAR-T-Zellprodukte, die von der FDA und der EMA zur Behandlung von B-Zellmalignomen zugelassen sind (siehe Tab. 10.1). Mit diesen CD19-spezifischen CAR-Konstrukten kann bei 50–75 % der Patienten ein Ansprechen erzielt werden, wobei in ca. 50 % der Fälle komplette Remissionen erreicht werden (Bethge et al. 2022). Darüber hinaus zeigten sich kommerziell erhältliche CAR-T-Zellprodukte

¹⁰Die GvHD ist eine entzündliche Nebenwirkung bei der allogenen Stammzelltransplantation, bei der die Immunzellen des Spenders Organe des Empfängers (z. B. Haut, Darm, Leber) schädigen.

¹¹Siehe NCT03166878: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03166878> [21.07.2023] und NCT03229876: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03229876> [21.07.2023].

¹²Akute lymphatische Leukämien (Blutkrebs) stammen von bösartigen B-Zellen ab, die das Antigen CD19 auf der Oberfläche tragen und unempfindlich gegenüber bisherigen Therapieverfahren sind.

¹³Position des Gens, das für die α -Kette des TZR codiert. Natürlicherweise ist der TZR aus einer α - und einer β -Kette zusammengesetzt.

¹⁴Siehe NCT04629729: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04629729?tab=history&a=2> [21.07.2023].

Tab. 10.1 Kommerzielle CAR-T-Zellprodukte

Handelsname	Kymriah®	Yescarta®	Tecartus®	Breyanzi®	Abecma®	Caryvkti®
Wirkstoff	Tisagenlecleucel	Axicabtagen ciloleucel	Brexucabtagen autoleucel	Lisocabtagen maraleucel	Idecabtagen vicleucel	Ciltacabtagen autoleucel
Firma	Novartis	Kite Pharma/ Gilead	Kite Pharma/Gilead	Juno Therapeutics	Celgene/Bristol Myers Squibb	Janssen
Zielantigen	CD19	CD19	CD19	CD19	BCMA	BCMA
Kostimulation	4-1BB	CD28	CD28	4-1BB	4-1BB	4-1BB
Signalomäne	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ
Vektor	Lentivirus	γ-Retrovirus	γ-Retrovirus	Lentivirus	Lentivirus	Lentivirus
Ausgangsmaterial	T-Zellapherese	T-Zellapherese	CD4 ⁺ und CD8 ⁺ T-Zellen aus T-Zellapherese	CD4 ⁺ und CD8 ⁺ T-Zellen aus T-Zellapherese	T-Zellapherese	T-Zellapherese
Zulassung	ALL, DLBCL, FL	DLBCL, FL	MCL, ALL	DLBCL	MM	MM
Zulassungsstudie	ELIANA (NCT02435849)	ZUMA-1 (NCT02348216)	ZUMA-2 (NCT02601313)	TRANSCEND NHL001 (NCT02631044)	KarMMa (NCT03361748)	CARTITUDE-1 (NCT03548207)
	JULIET (NCT02445248)	ZUMA-5 (NCT03105336)	ZUMA-3 (NCT02614066)			
	ELARA (NCT03568461)					

ALL = akute lymphatische Leukämie, DLBCL = diffus großzelliges B-Zell-Lymphom, FL = follikuläres Lymphom, MCL = Mantelzelllymphom, MM = multiples Myelom.

auch in der Zweitlinienbehandlung¹⁵ des diffus großzelligen B-Zell-Lymphoms (DLBCL; häufige Lymphdrüsenkrebserkrankung) ähnlich hochwirksam (Locke et al. 2022). Erst kürzlich wurde Axicabtagen-Ciloleucel als erstes CAR-T-Zellprodukt für die Zweitlinienbehandlung bei Patienten mit refraktärem oder rezidivierendem DLBCL zugelassen. Trotz vielversprechender Ergebnisse rezidivieren 30–60 % der Patienten nach einer CD19-spezifischen CAR-Therapie (Rafiq und Brentjens 2018), was auf einen Verlust des CD19-Antigens auf den Tumorzellen sowie auf eine begrenzte Persistenz und Expansion der übertragenen CAR-T-Zellen zurückgeführt wird.

Eine häufige Nebenwirkung nach CAR-T-Zellgabe ist das Zytokinfreisetzungssyndrom („Cytokine release syndrome“, CRS) (Lee et al. 2019), das sich als akutes bis subakutes Krankheitsbild mit Fieber nichtinfektiöser Ursache, grippeähnlichen Symptomen, Hypotonie (niedriger Blutdruck) und Hypoxie (Sauerstoffmangel) typischerweise in der ersten Woche nach CAR-T-Zellgabe manifestiert. Die Ursache ist eine CAR-vermittelte, überaus starke Aktivierung der T-Zellen, wobei große Mengen proinflammatorischer Zytokine freigesetzt werden, was zu einer immunologischen Kaskade mit der Aktivierung anderer Immunzellen, u. a. Makrophagen, führt. Leichte Formen des CRS treten bei der Mehrheit aller Patienten nach CAR-T-Zellgabe auf; schwere CRS-Manifestationen, die eine Aufnahme auf die Intensivstation nötig machen, sind eher selten. Therapeutisch stehen immunsuppressive Maßnahmen wie die Gabe des Zytokinrezeptorblockers Tozilizumab bei leichten Formen und Kortikosteroide bei schweren Verläufen im Vordergrund.

Eine weitere häufige Nebenwirkung ist eine Neurotoxizität („immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome“, ICANS) (Lee et al. 2019), die nur unzureichend verstanden, jedoch mit CRS gemeinsame pathogenetische Ursachen zu haben scheint, insbesondere in der T-Zellaktivierung und in der Aktivierung einer entzündlichen Immunkaskade. Klinisch äußert sich das ICANS initial durch eine Beeinträchtigung kognitiver Funktionen. Im weiteren Verlauf sind eine Minderung des Bewusstseins und das Auftreten epileptischer Anfälle charakteristisch, was nicht selten eine intensivmedizinische Betreuung erforderlich macht. Therapeutisch werden Kortikosteroide verabreicht. Trotz aller Dramatik sind sowohl CRS als auch ICANS bei entsprechender Therapie heilbare Nebenwirkungen.

10.8 Fazit

Chimäre Antigenrezeptoren (CARs) sind synthetische Rezeptor-Signal-Hybride, um Immunzellen, insbesondere T-Zellen, spezifisch gegen definierte Zielstrukturen zu richten. Durch seine Antikörper-abgeleitete Bindedomäne ist der CAR universell gegen eine Vielzahl von Zellen und Geweben einsetzbar; durch Kombination verschiedener Signalketten kann die T-Zellantwort gezielt moduliert werden. Dieses Werkzeug aus der Synthetischen Immunologie kann für die Krebstherapie, aber

¹⁵Nächstmögliche Therapie nach Versagen der üblichen Therapie für eine Erkrankung.

auch für die Therapie von chronischen Entzündungserkrankungen eingesetzt werden und wird langfristig die zellbasierte Immuntherapie revolutionieren.

Literatur

- Aleksandrova K et al (2019) Functionality and cell senescence of CD4/CD8-Selected CD20 CAR T cells manufactured using the automated CliniMACS Prodigy® platform. *Transfus Med Hemother* 46:47–54
- Beatty GL et al (2018) Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor T cells against Pancreatic Carcinoma Metastases in a phase 1 trial. *Gastroenterology* 155(1):29–32
- Bethge WA et al (2022) GLA/DRST real-world outcome analysis of CAR T-cell therapies for large B-cell lymphoma in Germany. *Blood* 140(4):349–358
- Cartellieri M et al (2016) Switching CAR T cells on and off: a novel modular platform for retargeting of T cells to AML blasts. *Blood Cancer J* 6(8):e458
- Chmielewski M, Abken H (2017) CAR T cells releasing IL-18 convert to T-Bet(high) FoxO1(low) effectors that exhibit augmented activity against advanced solid tumors. *Cell Rep* 21(11):3205–3219
- Chmielewski M et al (2011) IL-12 release by engineered T cells expressing chimeric antigen receptors can effectively muster an antigen-independent macrophage response on tumor cells that have shut down tumor antigen expression. *Cancer Res* 71(17):5697–5706
- Chmielewski M et al (2014) Of CARs and TRUCKs: chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma. *Immunol Rev* 257(1):83–90
- Eshhar Z et al (1993) Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 90(2):720–724
- Finney HM et al (1998) Chimeric receptors providing both primary and costimulatory signaling in T cells from a single gene product. *J Immunol* 161(6):2791–2797
- Guedan S et al (2019) Emerging cellular therapies for cancer. *Annu Rev Immunol* 37:145–171
- Hanna E et al (2016) Advanced therapy medicinal products: current and future perspectives. *J Mark Access Health Policy* 4:31036
- Hartmann J et al (2017) Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med* 9(9):1183–1197
- Holzinger A, Abken H (2022) Treatment with living drugs: pharmaceutical aspects of CAR T cells. *Pharmacology* 107(9–10):446–463
- Hombach A et al (2001) T-cell activation by recombinant receptors: CD28 costimulation is required for interleukin 2 secretion and receptor-mediated T-cell proliferation but does not affect receptor-mediated target cell lysis. *Cancer Res* 61(5):1976–1982
- Iglesias-López C et al (2019) Regulatory framework for advanced therapy medicinal products in Europe and United States. *Front Pharmacol* 10:921
- Iyer RK et al (2018) Industrializing Autologous Adoptive Immunotherapies: Manufacturing advances and challenges. *Front Med* 5:150
- Kaiser AD et al (2015) Towards a commercial process for the manufacture of genetically modified T cells for therapy. *Cancer Gene Ther* 22(2):72–78
- Köhl U et al (2018) CAR T cells in trials: Recent achievements and challenges that remain in the production of modified T cells for clinical applications. *Hum Gene Ther* 29(5):559–568
- Lee DW et al (2019) ASTCT consensus grading for Cytokine Release Syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 25(4):625–638
- Levine BL et al (2017) Global manufacturing of CAR T cell therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* 4:92–101
- Locke FL et al (2022) Axicabtagene Ciloleucel as second-line therapy for large B-Cell lymphoma. *N Engl J Med* 386(7):640–654

- Mazza R, Maher J (2021) Prospects for development of induced pluripotent stem cell-derived CAR-targeted immunotherapies. *Arch Immunol Ther Exp* 70(1):2
- Qasim W et al (2017) Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med* 9(374):eaaj2013
- Rafiq S, Brentjens RJ (2018) Tumors evading CARs—the chase is on. *Nat Med* 24(10):1492–1493
- Rafiq S et al (2018) Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo. *Nat Biotechnol* 36(9):847–856
- Roybal KT et al (2016) Engineering T cells with customized therapeutic response programs using synthetic Notch receptors. *Cell* 167(2):419–432.e16
- Ruella M et al (2016) Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies. *J Clin Invest* 126(10):3814–3826
- Schaft N (2020) The landscape of CAR-T cell clinical trials against solid tumors—A comprehensive overview. *Cancer* 12(9):2567
- Schneider CK et al (2010) Challenges with advanced therapy medicinal products and how to meet them. *Nat Rev Drug Discov* 9(3):195–201
- Shah NN et al (2020) Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nat Med* 26(10):1569–1575
- Spiegel JY et al (2021) CAR T cells with dual targeting of CD19 and CD22 in adult patients with recurrent or refractory B cell malignancies: a phase 1 trial. *Nat Med* 27(8):1419–1431
- Stewart-Jones G et al (2009) Rational development of high-affinity T-cell receptor-like antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(14):5784–5788
- Suarez ER et al (2016) Chimeric antigen receptor T cells secreting anti-PD-L1 antibodies more effectively regress renal cell carcinoma in a humanized mouse model. *Oncotarget* 7(23):34341–34355
- Urbanska K et al (2012) A universal strategy for adoptive immunotherapy of cancer through use of a novel T-cell antigen receptor. *Cancer Res* 72(7):1844–1852
- Wilkie S et al (2012) Dual targeting of ErbB2 and MUC1 in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling. *J Clin Immunol* 32(5):1059–1070

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Hämatopoetische Stammzelltransplantation: seit Jahrzehnten etablierte Zelltherapie

11

Hans-Jochem Kolb und Boris Fehse

11.1 Entwicklung der Stammzelltransplantation

Die Transplantation von Zellen und Organen war über Jahrhunderte ein Ziel der Medizin. Die hämatopoetische Stammzelltransplantation, d. h. die Übertragung des blutbildenden Systems von einem Spender auf einen Empfänger, ist die am längsten etablierte und seit Jahrzehnten erfolgreiche Anwendung in der Transplantationsmedizin.

Chiari beschrieb schon Anfang des 20. Jahrhunderts das Anwachsen von Knochenmarkspartikeln in der Milz von Kaninchen, wenn sie zuvor „röntgenbelichtet“ waren (Chiari 1912). Jedoch ermöglichten erst die Fortschritte der Immungenetik und der Strahlenbiologie den Erfolg der hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSCT). Beschleunigt wurde die Entwicklung Mitte des 20. Jahrhunderts durch die Testung und den Einsatz von Atomwaffen und die resultierende intensive Erforschung von Strahlenschäden. Dabei wurde deutlich, dass die Blutbildung als erste von den schädigenden Wirkungen radioaktiver Strahlung betroffen war (Juric et al. 2016).

Die hämatopoetischen Stammzellen (HSC) sind vor allem im Knochenmark, bei der Maus auch in der Milz, und in geringer Konzentration im Blut sowie anderen Geweben zu finden. Tatsächlich zeigten frühe Versuche, dass der akute

H.-J. Kolb
Kolb Consulting UG, München, Deutschland

B. Fehse (✉)
Forschungsabteilung Zell- und Genterapie, Klinik für Stammzelltransplantation,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg, Deutschland
e-mail: fehse@uke.de

Strahlentod bei Mäusen durch eine Abdeckung der Milz¹ (Jacobson et al. 1949) wie auch die Injektion von Knochenmark (Lorenz et al. 1951) verhindert werden konnte.

Auf der Basis ihrer wachstumshemmenden Wirkung wurde die Bestrahlung bald auch zu medizinischen Zwecken, vor allem in der Krebsbehandlung eingesetzt. Allerdings erforderte der klinische Einsatz vor allem der Ganzkörperbestrahlung zunächst eingehende Untersuchungen, um die toxischen Nebenwirkungen u. a. auf die Blutbildung begrenzen zu können. Dabei konnte gezeigt werden, dass Mäuse dem Strahlentod durch das Anwachsen und Überleben von Spenderzellen, die damals mit chromosomalen Markern (Ford et al. 1956) und Isoenzymen (van Bekkum und Voss 1957) nachgewiesen wurden, entgingen. Bereits 1957 versuchte der französische Arzt Georges Mathé vier serbische Physiker nach einem Strahlenunfall durch die Transplantation fremder HSC zu retten. Zwar wuchsen die fremden Zellen nicht an, das eigene Knochenmark der Physiker bekam jedoch durch die Transplantation offenbar genug Zeit, sich zu erholen und die Blutbildung zu regenerieren.²

1961 konnte das (bereits Anfang des 20. Jahrhunderts von A. Maximow postulierte)³ Konzept der Existenz hämatopoetischer Stammzellen durch den Nachweis sog. kolonieformender Einheiten (Colony Forming Units, CFUs) in der Milz bestrahlter Mäuse (Till und McCulloch 1961) empirisch bestätigt werden. In vitro konnten Progenitorzellen für Granulozyten (CFU-G), Monozyten (CFU-M), gemeinsame CFU-GM und Erythrozyten gezüchtet werden (Bradley und Metcalf 1966; Ichikawa et al. 1966), in Langzeitkulturen auch multipotente Vorläuferzellen.

Nach Versuchen in Nagetieren, Hunden und Primaten wurden bereits in der 2. Hälfte der 1950er-Jahre die ersten Knochenmarktransplantationen bei Menschen durchgeführt, beschränkten sich aber auf die Behandlung schwer kranker Patienten (Thomas et al. 1957) sowie die Transfusion von Knochenmark eineiiger Zwillingsspender (Thomas und Epstein 1965) zur Behandlung nach Strahlenexposition. Über zwei Jahrzehnte wurde die Entwicklung der KMT unter der Leitung von E. Donnall Thomas am Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle vorangetrieben.⁴ Insbesondere gelang es der Gruppe in Seattle, genetische Ursachen für die Abstoßung wie auch die lebensbedrohliche Spender-gegen-Wirt-Krankheit (Graft-versus-Host-Disease, GvHD) aufzudecken und erste Kriterien der Spenderauswahl zu definieren.

Nachdem initial nur Patienten mit Leukämien, also bösartigen Erkrankungen, transplantiert worden waren, wurden 1968 drei Patienten, zwei in den USA und einer in den Niederlanden, transplantiert, die an schweren angeborenen Immundefekten litten (Bortin et al. 1994). Kinder mit genetisch bedingten schweren kombinierten Immundefekten hatten damals nur eine sehr kurze Lebenserwartung von wenigen Monaten bis Jahren. Der erste, von Fritz Bach und Ro-

¹Schützt man die Milz einer Maus z. B. durch ein Bleischild vor der Bestrahlung, kann sie die Blutbildung auch bei zerstörtem Knochenmark aufrechterhalten.

²Siehe unter: <https://www.signalsblog.ca/the-story-of-the-first-bone-marrow-transplant/> [19.06.2023].

³Siehe Maximow 1909.

⁴Thomas erhielt dafür 1990 den Nobelpreis für Medizin.

bert A. Good in Minnesota im Alter von wenigen Monaten mit dem KM seiner älteren Schwester transplantierte Junge wuchs zu einem gesunden Erwachsenen heran.⁵

In den 1970er-Jahren wurde die KMT für weitere Indikationen erfolgreich getestet, so für Lymphome (Lymphdrüsenkrebs) und schwere aplastische Anämien.⁶ Allerdings war es zunächst nur möglich, Knochenmark von einem HLA-identischen (siehe Abschn. 11.4) Geschwister zu transplantieren. Die Chance, dass ein existierendes Geschwister HLA-identisch ist, beträgt 25 %. Erst Ende der 1970er-Jahre wurde, wieder in Seattle, die erste erfolgreiche Transplantation von einem passenden („matched“) unverwandten Spender durchgeführt. Heute sind die Spenderregister eine sehr wichtige Ressource für die HSCT.⁷

Im Laufe der Jahre haben sich sowohl die die eigentliche Transplantation (Infusion) der HSC vorbereitende Therapie (Konditionierung) als auch die in der nachfolgenden kritischen Phase notwendige supportive (Unterstützungs-)Therapie⁸ deutlich verbessert. So wurde seit Mitte der 1990er-Jahre die Intensität der Chemotherapie verringert und das Augenmerk auf die Verhinderung einer Abstoßung durch Unterdrückung des Immunsystems gelegt (siehe Abschn. 11.4). Die optimierte Strategie beruhte nicht zuletzt auf einem zunehmend besseren Verständnis der Mechanismen, die dem Erfolg der HSCT bei der Behandlung bösartiger Krankheiten zugrunde liegen. Dieser basiert nämlich in wesentlichen Teilen auf einem adoptiven Immuneffekt, d. h. der Zerstörung der Krebszellen durch Immunzellen des Spenders (siehe auch Abschn. 11.4). Die optimierten Strategien erlaubten es, immer ältere sowie Patienten mit schwächerer Konstitution zu transplantieren und so die Anwendung der HSCT entscheidend auszuweiten.

11.2 Wo finden sich Blutstammzellen?

Eine erste Unterscheidung unterschiedlicher Formen der HSCT wird anhand ihrer Quelle getroffen. Die ersten Transplantationen wurden mit Knochenmark durchgeführt, sodass der Begriff „Knochenmarktransplantation“ (KMT) auch heute noch oft benutzt wird. Dies hatte sich aus den Erkenntnissen der oben beschriebenen Studien ergeben, die das Knochenmark als wichtigste Quelle der Blutstammzellen identifiziert hatten. Dort befinden sich die HSC in relativ gut definierten Nischen, die entweder direkt an der inneren Knochenhaut (Endost) oder in der Nähe der Ge-

⁵ Siehe unter: https://en.wikipedia.org/wiki/Robert_A._Good [19.06.2023].

⁶ Eine aplastische Anämie ist eine schwere (hier genetisch bedingte) Blutbildungsstörung.

⁷ Wahrscheinlich kennt jeder die Werbung der Deutschen Knochenmarkspenderdatei (DKMS) „Stäbchen rein, Spender sein“. Mit mehr als 10 Mio. registrierten Spendern (davon > 7 Mio. in der BRD) ist die DKMS eine der größten Dateien weltweit (siehe unter: <https://de.wikipedia.org/wiki/DKMS> [19.06.2023]).

⁸ Einige Nebenwirkungen wie z. B. die relativ lange Blutarmut (insbesondere Leukopenie und Thrombozytopenie, vgl. Fn. 32) lassen sich nicht verhindern. Um daraus resultierende Risiken zu minimieren, kommen unterstützende Maßnahmen wie z. B. eine Antibiotikaphylaxe, Immunglobulin- oder Thrombozyteninfusionen zum Einsatz.

fäße liegen. Die HSC sind von mesenchymalen Stromazellen, regulatorischen T-Zellen, Makrophagen und Osteoblasten umgeben, die die Nische bilden und gemeinsam mit Nerven des vegetativen Nervensystems kontrollieren (Fujisaki et al. 2011; Mendelson und Frenette 2014; Baryawno et al. 2019). Für die Transplantation wird das Knochenmark unter Narkose und sterilen Bedingungen (im OP) durch Dutzende Punktionen aus dem Beckenkamm gewonnen. Diese Prozedur ist recht aufwendig. Daher hat man nach Wegen gesucht, die HSC aus dem Blut zu isolieren. In eigenen Experimenten konnten wir zeigen, dass aus dem Blut im Vergleich zum Knochenmark in etwa die 5-fache Menge Zellen für die Transplantation gesammelt werden muss, um beim Empfänger eine Wiederherstellung der Blutbildung (Hämatopoese) zu gewährleisten.⁹

Da im Normalzustand nur sehr wenige Stammzellen im peripheren Blut zu finden sind, müssen diese angeregt werden, aus dem Knochenmark ins Blut zu wandern,¹⁰ um dann eine ausreichend große Zahl von Stammzellen aus dem Blut gewinnen zu können. Dies gelang zunächst mit dem Chemotherapeutikum Cyclophosphamid. In der Erholungsphase nach einer cyclophosphamidinduzierten Zytopenie, bei der die Blutzellzahl unterhalb des Normalbereichs liegt, kommt es zu einem reaktiven Stammzellüberschuss im Blut. Die Behandlung mit Cyclophosphamid war aufgrund der Nebenwirkungen allerdings nur möglich, wenn die eigenen Blutstammzellen eines Patienten für eine sog. autologe Transplantation gesammelt werden sollten (siehe Abschn. 11.3). Bei gesunden Spendern ist die Applikation einer Chemotherapie zur Stammzellsammlung natürlich unmöglich. Hier kam der Durchbruch mit dem Nachweis, dass der Wachstumsfaktor Granulozytenkolonie-stimulierender Faktor (G-CSF) nicht nur Granulozyten, sondern auch Stammzellen mobilisiert (Molineux et al. 1990). Später konnte gezeigt werden, dass die Absiedlung der HSC aus dem Knochenmark (das Verlassen ihrer Nische) und die daraus folgende Mobilisierung ins Blut ganz wesentlich von der Interaktion des Chemokins¹¹ SDF-1 („stromal derived factor 1“) mit seinem Rezeptor CXCR-4 bestimmt wird. G-CSF und der später entdeckte CXCR4-gerichtete Hemmstoff Plerixafor lösen diese Bindung und geben die Stammzellen frei (Lapidot 2001). Die Menge an ins Blut ausgeschwemmten HSC kann anhand bestimmter Oberflächenmarker gemessen werden (Seita und Weissman 2010).¹²

⁹ Kolb und Mitarbeiter, unveröffentlicht.

¹⁰ Den Prozess des Austreibens von Stammzellen aus dem Knochenmark ins Blut nennt man Mobilisierung. Die ausgeschwemmten HSC wurden zunächst als PBSC (periphere Blutstammzellen) bezeichnet, woraus sich die Bezeichnung PBSCT (periphere Blutstammzelltransplantation) ableitete. Mit der Einführung des übergreifenden Begriffs „hämatopoetische Stammzelltransplantation“ (HSCT) wurde diese jedoch obsolet.

¹¹ Chemokine sind kleine Signalproteine, die z. B. Zellen anlocken und ihre Bewegungen im Körper steuern. Die Bindung der Signalproteine erfolgt über spezifische Chemokinrezeptoren. Die Interaktion von SDF-1 mit CXCR-4 hält die HSC in der Stammzellnische fest.

¹² Multipotente HSC sind positiv für den Marker (das Oberflächenantigen) CD34 und negativ für CD38. Zudem tragen sie keine linienspezifischen Marker, die für reife Blutzellen charakteristisch sind (Seita und Weissman 2010).

Zunächst war unklar, ob die mobilisierten Stammzellen die Blutbildung nach einer Transplantation langfristig aufrechterhalten oder nur zur vorübergehenden Erholung führen würden. Mittlerweile konnte aber gezeigt werden, dass die Blutbildung nach einer HSCT mit peripheren Blutstammzellen von einem gesunden Spender genau wie bei einer KMT vollständig und lebenslang von den Spenderzellen übernommen wird (sog. vollständiger Spenderchimärismus¹³). Offensichtlich ist die Mobilisierung ein natürlicher Vorgang, der stattfindet, wenn Knochenmarksräume „leer“ sind. Bei Bestrahlung von mehr als der Hälfte allen Knochenmarks kommt es zur Mobilisierung, bei weniger regeneriert sich die Blutbildung vor Ort.

Neben Knochenmark und Blut gibt es eine weitere klinisch relevante Quelle für hämatopoetische Stammzellen – das Nabelschnurblut. Die relativ große Menge an HSC im Nabelschnurblut erklärt sich damit, dass sich die Blutbildung des Menschen am Ende der Embryonalentwicklung aus der Leber in das Knochenmark verlagert. Entsprechend sind bei Neugeborenen viele Blutstammzellen „auf Wanderschaft“ und somit im Blut zu finden. Allerdings können natürlich nur kleine Mengen Nabelschnurblut (etwa 50 ml)¹⁴ gewonnen werden, was die Anwendung für die klinische HSCT limitiert (siehe Abschn. 11.4). Für eine klassische Knochenmarkstransplantation wird mehr als die 20-fache Menge (mehr als 1 l) eingesetzt.

11.3 Autologe Transplantation

Neben der Stammzellquelle wird auch die Herkunft der HSC einer weiteren Klassifizierung zugrunde gelegt. Danach werden autologe und allogene Transplantationen unterschieden. Bei der autologen HSCT (auto-SCT) werden dem Patienten eigene Blutstammzellen übertragen, bei der allogenen HSCT (allo-SCT) die von einem gesunden passenden verwandten („matched related donor“, MRD)¹⁵ oder passenden unverwandten („matched unrelated donor“, MUD).¹⁶ Was unter passender Spender zu verstehen ist, wird weiter unten erklärt.

Für die autologe Transplantation wurde die Verwendung von Knochenmark zugunsten mobilisierter HSC weitgehend eingestellt – deren Gewinnung ist einfacher und kann wiederholt durchgeführt werden. Entsprechend werden die eigenen Stammzellen eines Krebspatienten für die auto-SCT gesammelt, wenn er sich in Remission (kein Nachweis von Krebszellen) befindet und ein hohes Rückfallrisiko besteht. Kommt es tatsächlich zu einem Rückfall, kann der Patient eine sehr inten-

¹³Die Chimäre ist ein Mischwesen in der griechischen Mythologie. In der Medizin bedeutet Chimärismus, dass ein Organ (Gewebe) vollständig oder teilweise von einem anderen Individuum stammt. Es gibt einen Münsteraner Tatort zum Thema mit dem Titel „Erkläre Chimäre“.

¹⁴Zum Vergleich: Das entspricht ungefähr der Menge eines doppelten Espresso.

¹⁵Eine besondere Form der allogenen ist die syngene SCT von einem (perfekt passenden) eineiigen Zwilling.

¹⁶Vgl. Abschn. 11.1 und Fn. 7.

sive und stammzelltoxische Therapie¹⁷ bekommen, die sowohl die Krebszellen als auch seine gesunde Blutbildung abtötet. Die Blutbildung wird danach durch Reinfusion von Knochenmark oder G-CSF-mobilisierten Blutstammzellen wiederhergestellt (Armitage und Gale 1989).

Die auto-SCT wurde bei vielen unterschiedlichen Tumorarten eingesetzt (z. B. bei Brustkrebs, Eierstockkrebs und dem Ewing-Sarkom [bösartiger Knochentumor]), konnte sich aber nicht durchsetzen, da es nicht gelang, alle malignen Zellen (insbesondere die Tumor-„Stammzellen“) zu eliminieren, sodass die Tumoren i. d. R. bald zurückkamen.

Bei bösartigen Erkrankungen des Blut- und Lymphsystems (hämatologische Neoplasien) wie Leukämien, Lymphome und Multiplem Myelom besteht zusätzlich das Risiko der Kontamination des Transplantates mit Tumorzellen. Zwar wird das Stammzellpräparat zu einem Zeitpunkt gewonnen, da die Erkrankung als vollständig unterdrückt gilt, jedoch kann eine Verunreinigung mit einigen wenigen bösartigen Zellen nicht komplett ausgeschlossen werden. Es wurden verschiedene Reinigungsverfahren, z. B. mit Antikörpern ex vivo (Netzel et al. 1980; Gribben et al. 1991), per Ex-vivo-Chemotherapie (Jones 1992) oder durch gezielte Selektion der CD34-positiven Stammzellen (Dreger et al. 1999) getestet. Allerdings wurden dadurch die Ergebnisse der autologen Transplantation nicht verbessert und eine verzögerte immunologische Erholung war die Ursache für häufigere Infektionen. Die Anwendung von Antikörpern in vivo, z. B. Rituximab, erreicht nicht nur das Transplantat, sondern auch die Tumorzellen in vivo (Witzens-Harig et al. 2007).

Heute konzentrieren sich die Indikationen der auto-SCT auf das Multiple Myelom und Plasmazellerkrankungen sowie Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphome. In den USA wurden laut des Centers for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) 2020 mehr als 11.000 autologe Transplantationen durchgeführt, davon mehr als 7.000 bei Myelomen und Plasmazellerkrankungen und etwa 2.000 bei Lymphomen.¹⁸ Bei anderen Krankheiten wie Brustkrebs, Hodentumor, Eierstockkrebs, Sarkomen u. a. sind autologe Transplantationen dagegen eher selten geworden.

Eine vergleichsweise neuere Anwendung der auto-SCT ist die Behandlung schwerer Autoimmunkrankheiten wie Multiple Sklerose (Muraro et al. 2017), systemische Sklerose u. a. Auch bei der Therapie der autoimmunvermittelten Diabetes Typ I wurden Erfolge erzielt (Voltarelli et al. 2008), auch wenn nicht immer eine dauerhafte Toleranz induziert werden konnte (Alexander et al. 2021). Während bei malignen Erkrankungen das Immunsystem durch vorausgegangene Chemotherapien gelitten haben kann, zeigt die Erfahrung bei Autoimmunerkrankungen, dass langlebige Zellen des adaptiven (lernenden) Immunsystems (sog. Memory-T- und B-Zellen) nur schwer dauerhaft auszuschalten sind. Dies kann dazu führen, dass die Autoimmunkrankheit zurückkehrt, weil die gegen das eigene gesunde Ge-

¹⁷Aufgrund ihrer hohen Teilungsrate sind Blutstamm- und -vorläuferzellen besonders empfindlich gegenüber Chemotherapie. Da ein Mensch ohne Blutzellen nicht lange überleben kann, ist die Stammzelltoxizität somit dosislimitierend. Wird das Blutsystem aber nach der Therapie ersetzt, kann die Dosis erhöht werden.

¹⁸Siehe unter: <https://cibmtr.org/CIBMTR/Resources/Publicly-Available-Datasets#2020> [19.06.2023].

webe gerichteten autoaggressiven Immunzellen nicht komplett zerstört wurden. Es wurde daher untersucht, ob eine gegen diese langlebigen Zellen gerichtete Immuntherapie mit bispezifischen Antikörpern¹⁹ und T-Zellen (Stemmler et al. 2005a, b) die Ergebnisse verbessern kann. Ganz aktuelle Ergebnisse zeigen, dass bei bestimmten Autoimmunerkrankheiten die Eliminierung der Memory-B-Zellen mithilfe von CAR-T-Zellen (siehe Harrer/Abken, Kap. 10) zu einer langfristigen Remission bzw. potenziell zu einer Heilung führen kann (Mackensen et al. 2022). In einem alternativen Ansatz wurden die autoaggressiven Immunzellen durch eine längerdauernde immunsuppressive (Erhaltungs-)Therapie (über 4 bis 6 Monate) unterdrückt (Stadtmauer et al. 2019), um ihre Rückkehr zu verhindern. Solche längeren immunsuppressiven Behandlungen werden erfolgreich im Kontext der allogenen SCT angewendet (siehe Abschn. 11.4).

Ein ursprüngliches Bedenken gegen die Stammzellmobilisierung mit dem Wachstumsfaktor G-CSF bestand darin, dass dadurch evtl. Leukämien gefördert werden könnten. Tatsächlich wurde zwar eine erhöhte Rate neu auftretender Leukämien nach autologer Transplantation bei Lymphomen festgestellt (Milligan et al. 1999), ein Einfluss von G-CSF wurde aber nicht nachgewiesen, sodass die Ursache wahrscheinlich in der Chemotherapie lag. Bei gesunden Spendern wurde keine erhöhte Rate an Leukämie oder anderen Tumoren festgestellt (Hölig et al. 2009).

11.4 Allogene Transplantation

Im Gegensatz zur autologen Transplantation kann es bei allogener Transplantation, bei der den Patienten fremde bzw. Spenderzellen übertragen werden, schwere immunologische Komplikationen geben. Wie bei einer Organtransplantation können die fremden Zellen abgestoßen werden. Da bei der HSCT auch Immunzellen übertragen werden, gibt es auch das umgekehrte Phänomen – die Spenderzellen können Empfängerewebe als fremd erkennen und angreifen, was in einer GvHD resultieren kann. Daher hängt der Erfolg der allogenen Transplantation vor allem davon ab, ob ein passender Spender gefunden werden kann. Mithin waren für den Erfolg der Transplantation zwei Faktoren entscheidend – die Entwicklung einer praktisch anwendbaren Form der Ganzkörperbestrahlung (zur Zerstörung des alten Knochenmarks) sowie die Gabe einer immunsuppressiven Therapie nach der Transplantation, um das Anwachsen des Transplantates zu ermöglichen und die Spender-gegen-Wirt-Krankheit zu vermeiden. Methoden zur Unterdrückung des Immunsystems wurden in KMT-Modellen in verschiedenen Tieren entwickelt – Thomas verwendete bei Hunden Methotrexat (Thomas und Ferrebee 1962), Santos bei Ratten Cyclophosphamid (Santos et al. 1972).

Wie oben beschrieben gab es die ersten allogenen KMT in den 1950er-Jahren. Allerdings war seinerzeit das System der Gewebe- bzw. Histokompatibilität (Verträglichkeit), durch das jeder Mensch seine eigenen, hochindividuellen Trans-

¹⁹Bispezifische Antikörper erkennen sowohl Strukturen auf den zu zerstörenden Zielzellen als auch auf den „Killerzellen“ des Immunsystems. Dadurch werden die Immunzellen direkt zu ihren Opfern geführt.

plantationsantigene auf (fast) allen Zellen trägt, noch nicht bekannt. Aus vorangegangenen Tierstudien wusste man bereits, dass sich Gewebe und Organe nur zwischen genetisch identischen Organismen (z. B. eineiigen Zwillingen) relativ sicher übertragen ließ. Je weniger verwandt Spender und Empfänger waren, desto unwahrscheinlicher wurde der Erfolg einer Transplantation. Zugleich gab es noch keine Methoden, um die Histokompatibilität vorab zu testen. Für die ersten klinischen Versuche wurde daher Knochenmark von mehreren Familienmitgliedern genommen. Ein großer Fortschritt war es, als ein Patient von Mathé mehr als 7 Monate als Chimäre mit dem Knochenmark eines Spenders nach Ganzkörperbestrahlung und Transplantation lebte (Mathé et al. 1965).²⁰

Um die Transplantation breit anwendbar zu machen, wurde nach Wegen gesucht, die Histokompatibilität zwischen Spender und Empfänger vorab bestimmen zu können. Im Jahr 1958 konnte gezeigt werden, dass Seren von Patienten, die viele Bluttransfusionen erhalten hatten, Leukozyten agglutinierten, also zu deren Verklumpung führten (Dausset 1958), während Seren von Schwangeren Lymphozyten sogar direkt zerstören (lysieren) konnten (van Rood et al. 1958).²¹ Mit diesen Seren eröffneten sich die ersten Möglichkeiten, die Histokompatibilität zu testen und den besten Spender auszusuchen. Richtungsweisend waren hier Versuche beim Hund, mit Seren von immunisierten Tieren den richtigen Spender unter den Wurfgeschwistern auszusuchen (Epstein et al. 1968). Mitte der 1960er-Jahre wurde die Technik der gemischten Lymphozytenkultur („mixed lymphocyte culture“, MLC)²² entwickelt (Bach und Voynow 1966).

Ende der 1960er-Jahre wurden schließlich die ersten Elemente des „major histocompatibility complex“ (MHC) entdeckt – jener Genfamilie, die für die große Vielfalt der Antigene der Gewebeverträglichkeit codiert. Beim Menschen wurden die entsprechenden Antigenkomplexe HLA („Human Leukocyte Antigen“) genannt.²³ Mit der Entwicklung der Antikörpertechnologie war es noch vor der Aufdeckung der zugrunde liegenden Gensequenzen möglich, die unterschiedlichen HLA-Typen mit zunehmender Genauigkeit zu identifizieren. Bald wurden HLA-A, HLA-B und

²⁰ Mathé verstand bereits sehr früh, dass die Wirkung des Immunsystems ein entscheidendes Element für den Erfolg der KMT war. Er war es offensichtlich auch, der den Begriff der adoptiven Immuntherapie für die KMT prägte (Mathé et al. 1965).

²¹ In beiden Fällen ließ sich das damit erklären, dass die Betroffenen gegen die fremden Blutzellen immunisiert waren. Somit war gezeigt, dass Blutzellen in einem fremden Körper eine Abstoßungsreaktion auslösen.

²² Bei der MLC werden Lymphozyten des Empfängers (E) mit denen potenzieller Spender (S) zusammengebracht und die gegenseitige Stimulation wird über die dabei ausgelöste Zellvermehrung (anhand des Einbaus von ³H-Thymidin) gemessen. Je weniger E und S zusammenpassen, desto stärker proliferieren die Zellen. Wenn die Zellen der einen Fraktion vor der MLC inaktiviert werden, lässt sich die Aktivierung in eine Richtung messen („one-way MLC“).

²³ Leukozyten sind die weißen Zellen des Blutes, wo die HLA-Moleküle zuerst untersucht wurden. Tatsächlich tragen aber alle kernhaltigen Zellen des Körpers Antigene der drei Vertreter der MHC-Klasse-I (HLA-A, -B, -C). Dagegen finden sich die MHC-Klasse-II-Moleküle (HLA-DP, -DM, -DO, -DQ, -DR) regelhaft nur auf sog. professionellen antigenpräsentierenden Zellen des Immunsystems. Im Idealfall, sollten Spender und Empfänger für alle HLA-Loci weitgehend übereinstimmen. Dabei ist zu beachten, dass jeder Locus zweimal vorkommt (von Mutter und Vater).

HLA-C serologisch bestimmt („typisiert“), während man für HLA-D weiter auf die gemischte Lymphozytenkultur angewiesen war. Mittlerweile sind die genauen Strukturen, die einzelnen Genorte (auf Chromosom 6) wie auch die Gensequenzen des HLA-Systems bekannt. Darauf aufbauend erfolgt die Typisierung der Empfänger und potenziellen Spender heute genetisch mithilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR), einer Methode zur gezielten Vervielfältigung von DNA-Abschnitten. Die somit mögliche sehr genaue Bestimmung verbessert die Auswahl von Fremdspendern, bei denen – anders als bei Geschwistern – die HLA-Haplotypen²⁴ nicht per se gleich sind, sondern nur die Antigene auf Übereinstimmung getestet werden. Heute werden für die Transplantation regelhaft (2 x 5) 10 HLA-Lozi (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR B1 und HLA-DP) getestet. Weisen Spender und Empfänger eine vollständige Übereinstimmung in 10/10 HLA-Lozi auf, sind die Resultate der Transplantation ähnlich gut wie mit einem HLA-identischen Geschwisterspender.

Da die Zahl an verfügbaren Geschwistern aufgrund kleinerer Familien tendenziell abnimmt und nur wenige Länder so große Datenbanken freiwilliger Spender wie Deutschland haben, wurde in den letzten Jahren nach alternativen Wegen gesucht, um dem Spendermangel zu begegnen. Dies führte zur Entwicklung effizienter Protokolle für die sog. HLA-haploidente Transplantation. Als Spender hierfür kommen Familienmitglieder in Betracht, bei denen nur einer der beiden HLA-Komplexe übereinstimmt. Dies ist bei den leiblichen Eltern und (statistisch) bei zwei von drei der nicht vollständig passenden Geschwister der Fall, aber darüber hinaus kann es auch auf entferntere Verwandte wie Tanten/Onkel, Großeltern oder Cousins zutreffen. Um eine schwere GvHD nach der haplo-SCT zu verhindern, wurden spezielle Protokolle entwickelt, die auf die Entfernung (Depletion) der Spender-T-Zellen gerichtet sind. Diese kann entweder durch Methoden der Zellsortierung vor der Transplantation ex vivo erfolgen oder aber nach Transplantation in vivo durch Gabe des Immunblockers Cyclophosphamid in hoher Dosis.

Schon die oben eingeführten gemischten Lymphozytenkulturen hatten auf die wichtige Rolle der T-Zellimmunität im Rahmen der allogenen SCT hingewiesen. Zunächst hatte man diese Rolle vorwiegend als negativ interpretiert, da die Empfänger-T-Zellen eine Abstoßung und die Spender-T-Zellen eine GvHD vermitteln konnten. Als sich schließlich in den 1980er-Jahren die Möglichkeit ergab, die Spenderlymphozyten mithilfe von Antikörpern und einer magnetischen Zellsortierung vor der Transplantation zu eliminieren, begann man damit, T-Zell-depletierte (TCD-)Transplantate zu verabreichen. Tatsächlich führte dies zu einer Verringerung des Risikos einer schweren GvHD. Wider Erwarten waren die Langzeitergebnisse der TCD-SCT jedoch schlechter als bei Transplantationen mit T-Zellen. Dies hatte zwei Gründe – zum einen wurden die TCD-Transplantate häufiger abgestoßen, zum anderen erlitten mehr Patienten nach

²⁴Der gesamte HLA-Komplex wird i. d. R. wie ein einzelnes Gen vererbt. Von den Eltern erbt man je einen HLA-Komplex („Haplotyp“). Bei leiblichen Geschwistern besteht somit eine Wahrscheinlichkeit von (mind. 25 %), dass beide Haplotypen passend („matched“) sind. Da es aber noch weitere MHC-Gene gibt, besteht im Unterschied zu eineiigen Zwillingen, auch bei passenden Geschwistern keine perfekte Identität.

TCD-SCT einen Rückfall (Rezidiv) ihrer malignen Erkrankung. Dies zeigte, dass die Spender-T-Zellen nicht nur für das Anwachsen wichtig waren (indem sie die trotz der Konditionierung noch vorhandenen Immunzellen des Empfängers bekämpften), sondern offensichtlich auch die Krebszellen direkt bekämpfen konnten (Graft-versus-Leukämie-Effekt, GvL), womit das Postulat von Mathé bestätigt wurde. Mit dem darauf basierenden Konzept, dass der Erfolg der allogenen SCT nicht unwesentlich auf einem immuntherapeutischen Prinzip beruht, ließ sich auch ein weiteres scheinbares Paradoxon erklären, nämlich dass Patienten nach autologer SCT, aber auch nach syngener SCT häufiger rezidierten. Konnte man die erhöhte Rezidivneigung nach autologer SCT mit einer möglichen Kontamination des Transplantats durch maligne Zellen erklären, war dies bei der Transplantation von einem eineiigen Zwilling nicht möglich. Nimmt man aber den Immuneffekt der Spenderzellen ins Kalkül, passt alles ins Bild: Am wahrscheinlichsten sind Rezidive nach auto-SCT, da hier eine Kontamination möglich ist und der GvL-Effekt fehlt, am unwahrscheinlichsten nach allo-SCT (keine Kontamination und GvL-Effekt). Bei der syngenen SCT liegt die Rezidivwahrscheinlichkeit in der Mitte – es gibt kein Risiko für eine Kontamination, aber dafür ist der GvL-Effekt²⁵ aufgrund genetischer Identität zwischen Spender und Empfänger nur gering ausgeprägt. Dass der GvH- (und damit auch GvL-)Effekt selbst bei perfekt passenden Geschwistern auftritt, lässt sich damit erklären, dass neben dem „major histocompatibility complex“ auch noch sog. „minor histocompatibility antigens“ existieren, die zu einer Aktivierung einer spezifischen Immunantwort beim Spender (wie auch Empfänger) gegen die Zellen des jeweils anderen führen können.

Neben dem HLA-Komplex spielt bei der allogenen Transplantation auch die sog. natürliche Immunität, die über „natürliche Killerzellen“ (NK-Zellen) vermittelt wird, eine Rolle. Die Entdeckung geht auf Beobachtungen in Mäusen zurück, bei denen das Knochenmark abgestoßen wurde, obwohl dies nicht erwartet worden war, da die Empfänger dasselbe MHC trugen wie die Spender.²⁶ Nachdem zunächst vermutet wurde, dass es einen eigenen hämatopoetischen Histokompatibilitätsloкус geben könnte (Lotzová 1982), konnte später eine Rolle der „killer immunoglobulinlike receptors“ (KIR) nachgewiesen werden, die in Gruppen HLA-C-assoziiert sind. Dass die KIR auch eine antileukämische Wirkung entfalten können, wurde für die HLA-haploidente Transplantation nachgewiesen (Ruggeri et al. 2002). Danach haben Spenderzellen dann eine starke Wirkung gegen Leukämiezellen und antigen-präsentierende Zellen, wenn sie nicht durch Empfänger-KIR gehindert werden. Mittlerweile sind die Mechanismen der NK-Zellen detaillierter studiert (Myers und Miller 2021), überzeugende Studien für ihre selektive Wirksamkeit außerhalb allogener hämatopoetischer Transplantationen fehlen bisher.

²⁵Es ist wichtig zu beachten, dass ein wesentlicher Teil des GvL-Effekts sich nicht spezifisch gegen die malignen Zellen richtet, sondern diese als Teil der fremden Blutbildung erkennt. Es handelt sich also oft um einen GvH-Effekt, der sich aber eben (auch) gegen die bösartigen Blutzellen richtet.

²⁶Die Transplantation erfolgte von parentalen Inzuchtmäusen (C57Bl) auf gemischte Nachkommen der 1. Generation (F1-Hybride). Die F1-Hybride hatten dasselbe MHC wie die Spender und sollten daher deren Knochenmark nicht abstoßen (Cudkowicz und Bennett 1971).

11.5 Welche Stammzellen und welche Spender sind am besten?

Für beide Fragen gibt es keine eindeutige Antwort. Die Entscheidung für Knochenmark oder Blutstammzellen (PBSC) hängt von mehreren Faktoren, u. a. der Krankheit und dem Alter des Patienten, ab – nicht zuletzt aber natürlich von der Zustimmung des Spenders. In der Regel führen PBSC zu einem schnelleren Anwachsen und sind damit bei älteren und „unfiten“ Patienten vorzuziehen. Der höhere Gehalt an T-Zellen fördert das Anwachsen und verhindert besser eine Rückkehr der Leukämie (Holtick et al. 2014). Zugleich erhöht sich aber das GvHD-Risiko. Jüngere Patienten wie auch Patienten mit nichtmalignen Erkrankungen profitieren stärker von Knochenmark – das Risiko einer GvHD ist geringer. Zudem enthält das Knochenmark eine Reihe akzessorischer (unterstützender) Zellen, wie mesenchymale Stromazellen (MSC), regulatorische und Memory-T-Zellen, die das Anwachsen und die Immunrekonstitution fördern. Es wurde sogar die zusätzliche Gabe von MSC empfohlen (Bernardo und Fibbe 2015). Diese war zwar gut verträglich, eine kritische Auswertung der publizierten Studien fand aber keinen Vorteil (Kallekleiv et al. 2016). Manche Kollegen haben die Applikation der Stammzellen direkt in Knochen (intraossär) propagiert, um das Anwachsen zu verbessern (Castello et al. 2004), dies hat sich aber klinisch nicht durchgesetzt.

Bei der Auswahl der Spender sind noch immer HLA-identische Geschwister die idealen Spender. Falls ein HLA-identischer Familienspender fehlt, kommt ein unverwandter Spender (MUD) infrage. Wie oben beschrieben sollte idealerweise eine Übereinstimmung aller 10 Allele bei der genetischen Testung vorliegen (10/10 HLA-antigenidentische Spender).²⁷ Bei MUD-Transplantation sind PBSC und Knochenmark bzgl. Überleben und Rezidivrate gleich (Holtick et al. 2014), die größeren Differenzen der Histokompatibilität gleichen die Wirkung der T-Zellen mit PBSC aus. Während die Frequenz der HLA-identischen Geschwistertransplantationen über die Jahre gleichgeblieben ist (CIBMTR 2020),²⁸ haben die MUD-Transplantationen deutlich zugenommen. Insbesondere ältere Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) und myelodysplastischem Syndrom (MDS), deren Häufigkeitsgipfel im höheren Alter liegt, werden heute öfter transplantiert. Die Vortherapien sind deutlich verträglicher geworden (Lancet et al. 2018), sodass die Transplantation mit einer Konditionierung reduzierter Intensität²⁹ erfolgreicher wurde. Bei MDS und sekundärer AML (sAML) wird kein vollständiges Nachlassen der Symptome vorausgesetzt, sondern nach Kontrolle der Leukämie gleich

²⁷ Bei Vergleichen heutiger mit historischen Daten muss man berücksichtigen, dass früher lediglich 6 Allele getestet wurden (6/6 identische Spender), sodass viele Spender heute als nicht vollpassend („mismatched“) gelten würden.

²⁸ Siehe unter: <https://cibmtr.org/CIBMTR/Resources/Publicly-Available-Datasets#2020> [19.06.2023].

²⁹ Bei der Konditionierung reduzierter Intensität („reduced-intensity conditioning“, RIC) wird die Dosierung der Chemotherapie verringert. Um trotzdem ein vollständiges Anwachsen zu erreichen, können z. B. zusätzliche Gaben von Spenderlymphozyten („donor lymphocyte infusions“, DLI) erfolgen.

transplantiert. Die meisten allogenen Transplantate werden bei Patienten mit AML und MDS, gefolgt von myeloproliferativen Neoplasien (MPN) und akuter lymphatischer Leukämie (ALL), übertragen (CIBMTR 2020, siehe Fn. 18 bzw. 28).

Da AML mit Ausnahme der weniger risikoreichen Formen nicht ohne Transplantation heilbar ist, werden auch alternative Spender für Patienten diskutiert. Die Transplantation von einem HLA-haploidentischen Familienmitglied hat durch die Einführung von hochdosiertem Cyclophosphamid nach der Transplantation (sog. Post-Cy-Verfahren) einen enormen Aufschwung erfahren, da es preiswert und technisch einfach ist (Luznik et al. 2008). Auffallend ist das bessere Abschneiden lymphatischer Malignitäten als das myeloischer Erkrankungen, nachteilig war in jener Studie der gemischte oder auch fehlende Chimärismus bei einigen Patienten – offensichtlich haben 9 von 66 analysierten Patienten nach der HSCT die Spenderzellen wieder abgestoßen (Luznik et al. 2008). Auch wenn die haploidentische Transplantation keine besseren Ergebnisse liefert, ist sie oft nicht schlechter als die HLA-identische Transplantation. Ein großer Vorteil ist die relativ breite Verfügbarkeit von Spendern (siehe Abschn. 11.4).

Die Transplantation von Nabelschnurblutstammzellen („cord blood“, CB) wurde über viele Jahre sehr gefördert. Neben staatlichen bzw. gemeinnützigen CB-Zellbanken, die die Stammzellen für den Bedarfsfall einer allogenen SCT vorhalten, bieten auch zahlreiche private Firmen die Kryokonservierung und langfristige Aufbewahrung (z. B. bis zum 18. Geburtstag des betreffenden Individuums) von Stammzellen Neugeborener an. Diese Stammzellen sind dann ausschließlich für die eigene Verwendung beim „Spender“ der CB-Zellen vorgesehen. Dieses Geschäft ist ein ungedeckter Wechsel, bei dem praktisch nur die Bank gewinnt. Aus medizinischer Sicht am wahrscheinlichsten wäre eine Anwendung der CB-Stammzellen im Kindesalter zur Behandlung einer akuten Leukämie, der häufigsten bösartigen Erkrankung bei Kindern. Gerade dafür sind die eigenen CB-Stammzellen aber nicht geeignet, da diese die bösartigen Zellen oder deren Vorläufer bereits enthalten könnten. Zur Behandlung anderer Krankheiten ist die Anwendung von CB-Stammzellen i. d. R. hochspekulativ bzw. im besten Fall experimentell. Dagegen können CB-Präparate als Stammzellquelle in der allogenen SCT, also für einen anderen Patienten, durchaus sinnvoll sein. Dabei steht ihre Verwendung in Konkurrenz zu nicht perfekt passenden („mismatched unrelated donor“, MMUD-)Transplantaten freiwilliger Spender. Bei CB-Präparaten sollten mindestens 4 von 6 HLA-Antigenen gleich sein, wichtiger für den Erfolg der HSCT scheint aber die Menge an Stammzellen bzw. Zellen im Nabelschnurblut zu sein. Diese sollte mindestens $1 \times 10^5/\text{kg}$ CD34-positive Zellen³⁰ betragen. Die Zellzahl ist für das erfolgreiche Anwachsen essenziell, das nach CB-Transplantation aufgrund der relativ geringen Zellzahlen³¹ oft deutlich länger braucht. Andererseits sind Nabelschnur-HSC besonders produktiv, sie produzieren mehr Progenitorzellen als Knochenmark, das seinerseits wieder besser als PBSC ist (Wang et al. 1997; Hope et al. 2004). Die sehr lange Zeit der

³⁰Die Stammzelldosis bezieht sich immer auf das Körpergewicht des Patienten.

³¹Bei Stammzellen aus dem Knochenmark bzw. PBSC liegt die Dosis i. d. R. ca. 50-mal höher (5×10^6 CD34/kg).

Panzytopenie³² ist mit einer Reihe von Risiken für den Patienten verbunden (erhöhte Infektionsgefahr, Blutungsneigung etc.). Daher wurden mehrere Ansätze versucht, die Panzytopenie zu verhindern. So wurden die CB-Transplantate mit haploidentischen Knochenmarkszellen oder mit in vitro expandierten Stammzellen kombiniert (Mayani 2020). Die häufigste Modifikation war wohl die Verwendung zweier (oder mehrerer) Nabelschnurpräparate, allerdings war die Erholung des Blutbildes nicht schneller, die antileukämische Wirksamkeit war jedoch oft auffällig gut. Da sich mit der Zeit eines der beiden Präparate durchsetzte, ist davon auszugehen, dass es neben Graft-versus-Host- und Host-versus-Graft-Reaktionen auch Graft-versus-Graft-Reaktionen gegeben haben muss, die für das (schnellere) Anwachsen eventuell nachteilig waren. Zugleich scheint der doppelte Graft-versus-Leukämie-Effekt von Vorteil für die Wirkung gegen die Leukämie gewesen zu sein.

11.6 Posttransplantationstherapien

Wie in Abschn. 11.4 schon kurz dargelegt, erreichen auch nach einer allo-SCT nicht alle Patienten eine dauerhafte Unterdrückung ihrer malignen Erkrankung. Daher war es notwendig, Strategien für die Zeit nach der Transplantation zu entwickeln, um Rezidive zu verhindern und/oder erfolgreich zu bekämpfen.

Die Gruppe von Hans-Jochem Kolb hat dazu Ende der 1980er-Jahre das Prinzip der adoptiven Immuntherapie durch Transfusion von Spenderlymphozyten („donor lymphocyte infusions“, DLI) entwickelt. Im Hundemodell wurde gezeigt, dass Transfusionen von Spenderlymphozyten keine GvHD mehr auslösten, wenn sie zwei Monate oder später nach Transplantation gegeben wurden. Jedoch wurde beobachtet, dass der gemischte Chimärismus langsam in einen vollständigen Chimärismus übergang (Kolb et al. 1997). Klinisch wurden die DLI zunächst bei Patienten mit Rezidiv einer chronischen myeloischen Leukämie (CML) eingesetzt. Tatsächlich gelang es damit, bei den Patienten eine molekulare Vollremission zu erreichen, zwei von drei entwickelten aber eine GvHD, die jedoch behandelbar war (Kolb et al. 1990). In einer folgenden Studie der europäischen Fachgesellschaft EBMT³³ trat eine GvHD³⁴ Grad > I bei 35 % der Patienten auf (Kolb et al. 1995), sie war meistens gut behandelbar und die antileukämische Wirkung war bereits bei leichter GvHD (Grad I) erhöht. Bei einem Teil der Patienten kam es als Nebenwirkung zu einer Unterdrückung der Blutbildung im Knochenmark (Myelosuppression), sie konnte durch Transfusion von Knochenmark vom Spender korrigiert werden.

³² Bei Panzytopenie besteht ein Zellmangel in allen drei Linien des Blutes (Erythrozyten sind rote Blutzellen, Leukozyten sind weiße Blutzellen, Thrombozyten sind Blutplättchen). Im Unterschied dazu kann der Mangel auch in einzelnen Linien bestehen, z. B. bei den weißen Zellen (Leukopenie).

³³ Damals: European Society for Bone Marrow Transplantation, heute: European Society for Blood and Marrow Transplantation.

³⁴ Die GvHD wird in vier Schweregrade eingeteilt, von I (leicht, keine Behandlung nötig) bis IV (sehr schwer, hohes Risiko eines tödlichen Verlaufs).

In der EBMT-Studie waren auch vier Patienten eingeschlossen, die von eineiigen Zwillingsgeschwistern DLI erhalten hatten. Keiner dieser vier Patienten sprach auf die DLI an, was die bereits oben erwähnte Bedeutung der Histokompatibilitätsantigene für den GvL-Effekt unterstreicht.

Aufgrund ihrer Krankheit haben Patienten mit CML verschiedene Immundefizite, die den Erfolg der Immuntherapie behindern können. Hier gelang es jedoch bei vielen Patienten, durch Kombinationstherapien die Wirksamkeit der DLI wiederherzustellen. So führte die Behandlung mit DLI in Kombination mit dem immunstimulierenden Hormon Interferon- α (IFN- α) bei etwa 80 % der Patienten mit Rezidiv in chronischer Phase zu einer zytogenetischen und meistens auch molekularen Vollremission.³⁵ Bei Versagen der DLI konnte die Kombination von DLI mit IFN- α und GM-CSF erfolgreich sein (Kolb et al. 2004).

Bei akuter myeloischer Leukämie war die Rezidivbehandlung mit DLI weniger erfolgreich. Als Gründe gelten die größere proliferative Dynamik (die bösartigen Zellen teilen sich deutlich schneller als bei der CML, sodass es quasi zu einem Wettrennen mit den Immunzellen kommt) wie auch die Rück- bzw. Dedifferenzierung der malignen Zellen in frühere Entwicklungsstadien (Blasten), was mit größerer Malignität und geringerer „Angriffsfläche“ einhergeht (z. B. durch Herunterregulation immunstimulatorischer und Hochregulation immunsuppressiver Antigene). Trotzdem konnten bei einigen Patienten Langzeitremissionen durch eine Kombination von DLI oder mobilisierten PBSC³⁶ mit einer milden Chemotherapie in Form von „low dose“-Cytarabin (Schmid et al. 2004) oder wiederholten Zyklen Azacytidin (Schroeder et al. 2016) induziert werden. Bei rasch fortschreitenden Formen hat eine FLAMSA-Chemotherapie³⁷ (Kolb und Schmid 2020) in Verbindung mit mobilisierten PBSC geholfen.

Prophylaktische DLI (also DLI bereits vor dem Auftreten eines Rückfalls) hat die Kolb-Gruppe als Teil einer schrittweisen (sequenziellen) Therapie bei AML untersucht und gesehen, dass bei Patienten, die in Remission transplantiert worden waren, Rezidive nur selten auftraten (Kolb 2008). Bei Patienten nach Transplantation im Rezidiv gab es weniger Rezidive als in einer historischen Vergleichsgruppe. Eine Matched-Pair-Analyse³⁸ ergab eine signifikante Verbesserung des rezidivfreien Überlebens (Jedlickova et al. 2016). Allerdings sollten prophylaktische DLI nur bei Nachweis eines Chimärismus und in Abwesenheit von Infektionen wie auch GvHD auch 30 Tage nach Absetzen der Immunsuppression durchgeführt

³⁵Zytogenetisch bedeutet hier, dass die malignen Zellen mikroskopisch nicht mehr nachweisbar waren. Bei einer molekularen Remission waren sie auch mit den sensitivsten PCR-Techniken nicht mehr auffindbar.

³⁶Als Donorleukozyteninfusion haben (mobilisierte) PBSC quasi eine zweifache Funktion, da sie neben dem GvL-Effekt auch die Spenderblutbildung unterstützen.

³⁷Bei FLAMSA handelt es sich um ein bestimmtes Chemotherapie-Regime, das bei der AML verwendet wird. Es besteht aus drei Wirkstoffen: Fludarabin, Amsacrin und Cytarabin.

³⁸Für eine Matched-Pair-Analyse werden den Patienten der Untersuchungsgruppe jeweils passende (also solche mit übereinstimmenden Charakteristika) aus der Vergleichsgruppe zugeordnet. So wird verhindert, dass sich z. B. in der einen Vergleichsgruppe nur Patienten mit niedrigem, in der anderen solche mit hohem Risiko befinden, was die Ergebnisse natürlich verzerren würde.

werden. Damit bleibt eine Zeitspanne von 4 bis 6 Monaten nach Transplantation bis zu den DLI, die zu überbrücken ist. Dies bedeutet, dass frühe Rezidive, wie sie z. B. oft bei Flt3-positiver AML auftreten, nicht erfasst werden. Hier besteht die Notwendigkeit einer überbrückenden („bridging“) Therapie. Eine Möglichkeit ist die Behandlung mit Sorafenib (Metzelder et al. 2009; Burchert et al. 2020) oder einem anderen Flt3-Inhibitor. Auch Histondeacetylasehemmer (Bug et al. 2017) haben gute Ergebnisse gezeigt.

Immunantworten gegen Minor-Histokompatibilitäts- wie auch Differenzierungsantigene sind individualspezifisch, richten sich also gleichzeitig gegen gesunde (GvH-) wie auch gegen bösartige (GvL-) Zellen des jeweiligen Patienten. Wird eine Immunantwort jedoch durch Neoantigene, die durch Mutationen in den Krebszellen entstanden sind, ausgelöst, richtet sie sich ausschließlich gegen die Krebszellen. So können Peptide der BCR/ABL-Fusion spezifisch für CML bzw. BCR/ABL-positive akute lymphatische Leukämie sein; sie können eine Immunreaktion von CD4- und CD8-positiven Zellen hervorrufen. Solche spezifischen Immunantworten sind insofern sehr erwünscht, da sie kein Risiko einer GvHD in sich tragen (Wagner et al. 2003; Kessler et al. 2006).

Andere Gruppen haben bei der AML keinen positiven Effekt von DLI gefunden (Estey 2020; Craddock et al. 2021). Eine mögliche Ursache ist die Tatsache, dass die Patienten in jenen Studien bereits sehr viele T-Zellen in ihrem Transplantat bekommen hatten und keine ausreichende T-Zelldepletion stattfand, sodass eine zusätzliche Gabe DLI zu einem späteren Zeitpunkt nichts bewirken konnte.

Rezidive bei ALL sprechen i. d. R. weniger gut auf DLI an (Kolb et al. 1995), eine Verbesserung der Ergebnisse ist durch die Kombination mit bispezifischen Antikörpern möglich (Buhmann et al. 2009; Schuster et al. 2013). Rezidive von multiplen Myelomen sprechen i. d. R. gut auf DLI an (Kolb et al. 1995), die Remissionen sind allerdings von begrenzter Dauer (Alyea et al. 2001; Bellucci et al. 2005).

Genetisch modifizierte T-Zellen in Form von „chimeric antigen receptor“-modifizierten CAR-T-Zellen konnten bei ALL (Maude et al. 2018), Non-Hodgkin-Lymphome und Myelomen überzeugende Erfolge erzielen (zur CAR-T-Zelltherapie siehe Harrer/Abken, Kap. 10). Eine Limitation der CAR-T-Zelltherapie besteht darin, dass bei vielen Patienten krankheits- und therapiebedingt ein Mangel an fitten T-Zellen vorliegt, sodass es schwierig ist, funktionell aktive CAR-T-Zellen zu generieren. Zudem können die CAR-T-Zellen verloren gehen oder durch Immunantworten gegen Anteile des CARs abgestoßen werden. Schließlich kommt es vor allem bei akuten Leukämien zu Rezidiven, bei denen das Zielantigen des CARs verloren gegangen ist.

Besteht bereits ein voller Spenderchimärismus nach allo-SCT können CAR-T-Zellen aus Spenderzellen hergestellt werden, die keiner Krankheit oder Chemotherapie ausgesetzt waren und vom Patienten nicht abgestoßen werden. Die CAR-T-DLI sind offensichtlich recht gut wirksam (Brudno et al. 2016; Anwer et al. 2017), erstaunlicherweise produzieren sie kaum GvHD, obwohl nur 20–70 % der T-Zellen mit CAR modifiziert sind. Dennoch werden Möglichkeiten untersucht, GvHD weiter zu vermeiden, indem gezielt ausschließlich virusspezifische T-Zellen (Terakura et al. 2012; Cruz et al. 2013) genetisch modifiziert werden. Ein anderer Ansatz be-

steht darin, den T-Zellrezeptor durch Genome-Editing zu entfernen (Smith et al. 2018; siehe Fehse et al., Kap. 7). Bei Virusexposition sprachen auch die virusspezifischen CAR-T-Zellen an. Eine Gabe von CAR-T-DLI in steigender Dosierung, wie bei DLI zur GvHD-Prophylaxe üblich, wurde bisher nicht untersucht.

11.7 Spätfolgen und Langzeitergebnisse

Die allogene Stammzelltransplantation ist eine sehr erfolgreiche und etablierte zelluläre Therapie, die schon seit mehr als 50 Jahren regulär zum Einsatz kommt. In den frühen Jahren wurden Konditionierungen in höchster Dosierung angewendet, wie z. B. Einzeldosis-Ganzkörperbestrahlung mit 10 Gy, Hochdosis-Cyclophosphamid und Busulfan. Trotz dieser höchstintensiven Behandlung und der damit verbundenen oft schweren und nicht selten tödlichen Nebenwirkungen konnten Rezidive der Leukämie auftreten. Entsprechend war die Behandlung nur bei anderweitig aussichtslosen Krankheitsstadien gerechtfertigt. Die fraktionierte Bestrahlung³⁹ und die bessere supportive Therapie (siehe Abschn. 11.1) haben es dann ermöglicht, auch Patienten in Remission zu transplantieren (Thomas et al. 1975a, b). Die langfristigen Erfolge stiegen damit von 10–20 % auf 50–60 % der Patienten. In der Regel geht das Risiko schwerer Nebenwirkungen nach 4 bis 6 Monaten zurück, es besteht eine Transplantationstoleranz. Jedoch kann eine chronische GvHD aus einer nicht beherrschten akuten GvHD hervorgehen oder neu – oft im Gefolge einer Infektion – entstehen, was je nach Schwere mit einer signifikanten Einschränkung der Lebensqualität verbunden sein kann.

Die meisten Patienten, die die Transplantation mehr als 5 Jahre überleben, sind gesund und gehen ihrer normalen Tätigkeit nach (Duell et al. 1997), Einschränkungen ihres Gesundheitszustandes sind vor allem durch die chronische GvHD bedingt. Die chronische GvHD und ihre Behandlung mit Calcineurininhibitoren können zudem sowohl zu nichtmalignen Spätschäden (siehe unten) wie auch zu Zweitmalignomen beitragen. Auch infolge der intensiven Therapie sowie individueller Risikofaktoren besteht ein erhöhtes Risiko für weitere, sog. sekundäre Neoplasien (Kolb et al. 1999). Spätrezidive (nach mehr als 5 Jahren) sind bei CML (Hirschbuehl et al. 2015), AML und multiplem Myelom möglich. Bei Frauen mit AML manifestieren sich späte Rezidive oft im Bauchraum, vermutlich von den Eierstöcken ausgehend. Myelomrezidive sprechen oft auf niedrig dosiertes Lenalidomid mit und ohne DLI an.

Weitere mögliche Spätkomplikationen umfassen das sog. metabolische Syndrom mit Hyperglykämie (erhöhter Blutzucker), Hypertriglyzeridämie (Störung des Fettstoffwechsels), niedrigen Werten von „high density lipoprotein“(HDL)-Cholesterin und damit assoziiert Hypertonie (Bluthochdruck) sowie Adipositas (Greenfield et al. 2021). Daraus resultieren Risiken für Komplikationen im Bereich des Herzens

³⁹Bei einer fraktionierten Bestrahlung erfolgt die Bestrahlung statt in einer sehr großen Einzeldosis in mehreren kleineren Dosen, was die unerwünschte Toxizität deutlich verringert, ohne die Wirksamkeit zu beeinflussen.

und der Gefäße. Während das metabolische Syndrom bei autolog und allogenen transplantierten Patienten gleich häufig auftritt, sind pulmonale, kardiovaskuläre und renale Komplikationen häufiger bei allogenen transplantierten Patienten (Tichelli et al. 2008).

Besonders belastend sind Strahlenspätschäden, die vor allem bei Patienten auftreten, die in den ersten Jahren mit Einzeldosen von 10 Gy bestrahlt worden waren. Demgegenüber ist die Mehrheit der überlebenden Patienten der letzten 3 Jahrzehnte zumeist in guter Verfassung und erfreut sich am Leben. Erfreulicherweise konnten einige Kinder zeugen und gebären. Menschliche Langzeitchimären sind der beste Beweis für die Rolle von hämatopoetischen Stammzellen, die nicht nur Blut mit der Blutgruppe des Spenders produzieren, sondern auch eine schützende Immunität aufrechterhalten.

Literatur

- Alexander T et al (2021) Hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune disease. *Annu Rev Med* 72:215–228
- Aleya E et al (2001) T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation followed by donor lymphocyte infusion in patients with Multiple Myeloma: induction of graft-versus-myeloma effect. *Blood* 98(4):934–939
- Anwer F et al (2017) Donor origin CAR T cells: graft versus malignancy effect without GVHD, a systematic review. *Immunotherapy* 9(2):123–130
- Armitage J, Gale RP (1989) Bone marrow autotransplantation. *Am J Med* 86:203–206
- Bach FH, Voynow N (1966) One way stimulation in mixed leukocyte culture. *Science* 153(3735):345–347
- Baryawno N et al (2019) A cellular taxonomy of the bone marrow stroma in Homeostasis and Leukemia. *Cell* 177(7):1915–1932.e16
- van Bekkum DW, Voss O (1957) Immunological aspects of homio- and heterologous bone marrow transplantation in irradiated animals. *J Cell Comp Physiol* 50:139–156
- Bellucci R et al (2005) Graft-versus-tumor response in patients with multiple myeloma is associated with antibody response to BCMA, a plasma-cell membrane receptor. *Blood* 105(10):3945–3950
- Bernardo ME, Fibbe WE (2015) Mesenchymal stromal cells and hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol Lett* 168(2):215–221
- Bortin MM et al (1994) 25th anniversary of the first successful allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant* 14:211–212
- Bradley TR, Metcalf D (1966) The growth of mouse bone marrow cells in vitro. *Aust J Exp Biol Med Sci* 44(3):287–299
- Brudno JN et al (2016) Allogeneic T cells that express an anti-CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation without causing graft-versus-host disease. *J Clin Oncol* 34(10):1112–1121
- Bug G et al (2017) Phase I/II study of the deacetylase inhibitor panobinostat after allogeneic stem cell transplantation in patients with high-risk MDS or AML (PANOBEST trial). *Leukemia* 31(11):2523–2525

- Buhmann R et al (2009) Immunotherapy of recurrent B-cell malignancies after allo-SCT with Bi20 (FBTA05), a trifunctional anti-CD3 × anti-CD20 antibody and donor lymphocyte infusion. *Bone Marrow Transplant* 43(5):383–397
- Burchert A et al (2020) Sorafenib maintenance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with FLT3-internal tandem duplication mutation (SORMAIN). *J Clin Oncol* 38(26):2993–3002
- Castello S et al (2004) Intra-bone marrow injection of bone marrow and cord blood cells: an alternative way of transplantation associated with a higher seeding efficiency. *Exp Hematol* 32(8):782–787
- Chiari OM (1912) Vorläufige Mitteilung über Knochenmarktransplantation. *Münchener Med Wochenschrift* 59:404–405
- Craddock C et al (2021) Augmented reduced-intensity regimen does not improve postallogeneic transplant outcomes in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 39:768–778
- Cruz CRY et al (2013) Infusion of donor-derived CD19-redirected virus-specific T cells for B-cell malignancies relapsed after allogeneic stem cell transplant: a phase 1 study Key Points. *Blood* 122(17):2965–2973
- Cudkowicz G, Bennett M (1971) Peculiar immunobiology of bone marrow allografts. II. Rejection of parental grafts by resistant F 1 hybrid mice. *J Exp Med* 134(6):1513–1528
- Dausset J (1958) Iso-leuko-anticorps. *Acta Haematol* 20:156–166
- Dreger P et al (1999) Autografting of highly purified peripheral blood progenitor cells following myeloablative therapy in patients with lymphoma: a prospective study of the long-term effects on tumor eradication, reconstitution of hematopoiesis and immune recovery. *Bone Marrow Transplant* 24:153–161
- Duell T et al (1997) Health and functional status of long-term survivors of bone marrow transplantation. EBMT Working Party on Late Effects and EULEP Study Group on Late Effects. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Ann Intern Med* 126(3):184–192
- Epstein RB et al (1968) Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. *Transplantation* 6(1):45–58
- Estey EH (2020) Acute myeloid leukemia: 2021 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol* 95(11):1368–1398
- Ford CE et al (1956) Cytological identification of radiation chimeras. *Nature* 177:452–454
- Fujisaki J et al (2011) In vivo imaging of T reg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature* 474(7350):216–220
- Greenfield DM et al (2021) Metabolic syndrome and cardiovascular disease after haematopoietic cell transplantation (HCT) in adults: an EBMT cross-sectional non-interventional study. *Bone Marrow Transplant* 56(11):2820–2825
- Gribben JG et al (1991) Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-Cell lymphoma. *N E J Med* 325(22):1525–1533
- Hirschbuehl K et al (2015) Ponatinib given for advanced leukemia relapse after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 50(4):599–600
- Hölig K et al (2009) Safety and efficacy of hematopoietic stem cell collection from mobilized peripheral blood in unrelated volunteers: 12 Years of single-center experience in 3928 donors. *Blood* 114(18):3757–3763
- Holtick U et al (2014) Bone marrow versus peripheral blood allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for haematological malignancies in adults. *Cochrane Database of Syst Rev* 2014(4):CD010189
- Hope KJ et al (2004) Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat Immunol* 5(7):738–743
- Ichikawa Y et al (1966) In vitro control of the development of macrophage and granulocyte colonies. *Proc Natl Acad Sci USA* 56(2):488–495

- Jacobson LO et al (1949) The effect of spleen protection on mortality following X-irradiation. *J Lab Clin Med* 34(11):1538–1543
- Jedlickova Z et al (2016) Long-term results of adjuvant donor lymphocyte transfusion in AML after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 51(5):663–667
- Jones RJ (1992) Purging with 4-hydroperoxycyclophosphamide. *J Hematother* 1(4):343–348
- Juric MK et al (2016) Milestones of hematopoietic stem cell transplantation – from first human studies to current developments. *Front Immunol.* 7:470
- Kallekleiv M et al (2016) Co-transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Cytotherapy* 18(2):172–185
- Kessler JH et al (2006) BCR-ABL fusion regions as a source of multiple leukemia-specific CD8+ T-cell epitopes. *Leukemia* 20(10):1738–1750
- Kolb HJ (2008) Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood* 112(12):4371–4383
- Kolb HJ, Schmid C (2020) The FLAMSA concept – past and future. *Ann Hematol* 99(9):1979–1988
- Kolb HJ et al (1990) Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 76(12):2462–2465
- Kolb HJ et al (1995) Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 86(5):2041–2050
- Kolb HJ et al (1997) Adoptive immunotherapy in canine chimeras. *Transplant* 63(3):430–436
- Kolb HJ et al (1999) Malignant neoplasms in long-term survivors of bone marrow transplantation. Late effects Working Party of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Late Effect Project Group. *Ann Intern Med* 131(10):738–744
- Kolb HJ et al (2004) In-vivo generation of leukaemia-derived dendritic cells. *Best Pract Res Clin Haematol* 17(3):439–451
- Lancet JE et al (2018) CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) liposome for injection versus conventional cytarabine plus daunorubicin in older patients with newly diagnosed secondary acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 36(26):2684–2692
- Lapidot T (2001) Mechanism of human stem cell migration and repopulation of NOD/SCID and B2mnull NOD/SCID mice. The role of SDF-1/CXCR4 interactions. *Ann N Y Acad Sci* 938:83–95
- Lorenz E et al (1951) Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injection. *J Nat Cancer Inst* 12:197–201
- Lotzová E (1982) Natural bone marrow graft rejection phenomenon in mice. *Surv Immunol Res.* 1(2):155–161
- Luznik L et al (2008) HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood and Marrow Transplant* 14(6):641–650
- Mackensen A et al (2022) Anti-CD19 CAR-T-cell therapy for refractory systemic lupus erythematosus. *Nat Med.* 28(10):2124–2132
- Mathé G et al (1965) Adoptive immunotherapy of acute leukemia: experimental and clinical results. *Cancer Res* 25(9):1525–1531
- Maude SL et al (2018) Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 378(5):439–448
- Maximov A (1909) Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. *Folia Haematologica* 8:125–134. Neu veröffentlicht (2009). *Cellular Therapy Transplant* 1(3)
- Mayani H (2020) Cord blood research, banking, and transplantation: achievements, challenges, and perspectives. *Bone Marrow Transplant* 55(1):48–61

- Mendelson A, Frenette PS (2014) Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration. *Nat Med* 20(8):833–846
- Metzelder S et al (2009) Compassionate use of sorafenib in FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia: sustained regression before and after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 113(26):6567–6571
- Milligan DW et al (1999) Secondary leukaemia and myelodysplasia after autografting for lymphoma: results from the EBMT. *Br J Haematol* 106(4):1020–1026
- Molineux G et al (1990) Transplantation potential of peripheral blood stem cells induced by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 76(10):2153–2158
- Muraro PA et al (2017) Autologous haematopoietic stem cell transplantation for treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 13(7):391–405
- Myers JA, Miller JS (2021) Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 18(2):85–100
- Netzel B et al (1980) Immunological conditioning of bone marrow for autotransplantation in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 1(8182):1330–1332
- van Rood JJ et al (1958) Leukocyte antibodies in the sera from pregnant women. *Nature* 181:1735–1736
- Ruggeri L et al (2002) Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 295(5562):2097–2100
- Santos GW et al (1972) The use of cyclophosphamide for clinical marrow transplantation. *Transplant Proc* 4:559–564
- Schmid C et al (2004) Low-dose ARAC, donor cells, and GM-CSF for treatment of recurrent acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 18(8):1430–1433
- Schroeder T et al (2016) Hypomethylating agents after allogeneic blood stem cell transplantation. *Stem Cell Investig* 3:84–84
- Schuster FR et al (2013) Anti-leukaemic activity of a novel haploidentical-transplantation approach employing unmanipulated bone marrow followed by CD6-depleted peripheral blood stem cells in children with refractory/relapsed acute leukaemia. *Br J Haematol* 162(6):802–807
- Seita J, Weissman IL (2010) Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2(6):640–653
- Smith M et al (2018) Posttransplant chimeric antigen receptor therapy. *Blood* 131(10):1045–1052
- Stadtmauer EA et al (2019) Autologous transplantation, consolidation, and maintenance therapy in multiple myeloma: results of the BMT CTN 0702 trial. *J Clin Oncol* 37:589–597
- Stemmler HJ et al (2005a) Lasting remission following multimodal treatment in a patient with metastatic breast cancer. *Anticancer Drugs* 16(10):1135–1137
- Stemmler HJ et al (2005b) Combined treatment of metastatic breast cancer (MBC) by high-dose chemotherapy (HDCT) and bispecific antibodies: a pilot study. *Anticancer Res* 25(4):3047–3054
- Terakura S et al (2012) Generation of CD19-chimeric antigen receptor modified CD8+ T cells derived from virus-specific central memory T cells. *Blood* 119(1):72–82
- Thomas ED, Epstein RB (1965) Bone marrow transplantation in acute leukemia. *Cancer Res* 25:1521–1524. Unter: http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/25/9_Part_1/1521/2380067/cr0259p11521.pdf. Zugegriffen am 08.03.2023
- Thomas ED, Ferrebee JW (1962) Transplantation of marrow and whole organs: experiences and comments. *Can Med Assoc J* 86(10):435–444
- Thomas ED et al (1957) Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med* 257(11):491–496
- Thomas ED et al (1975a) Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med* 292(16):832–843
- Thomas ED et al (1975b) Bone-marrow transplantation (second of two parts). *N Engl J Med* 292(17):896–902
- Tichelli A et al (2008) Late pulmonary, cardiovascular, and renal complications after hematopoietic stem cell transplantation and recommended screening practices. Unter: http://ashpublications.org/hematology/article-pdf/2008/1/125/786425/125_133ash.pdf. Zugegriffen am 08.03.2023

- Till JE, McCulloch EA (1961) A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 14:213–222
- Voltarelli JC et al (2008) Autologous hematopoietic stem cell transplantation for type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 1150:220–229
- Wagner WM et al (2003) The abl/bcr gene product as a novel leukemia-specific antigen: peptides spanning the fusion region of abl/bcr can be recognized by both CD4 and CD8 T lymphocytes. *Cancer Immunol Immunother* 52(2):89–96
- Wang JCY et al (1997) Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. *Blood* 89(11):3919–3924
- Witzens-Harig M et al (2007) Long-term follow-up of patients with non-hodgkin lymphoma following myeloablative therapy and autologous transplantation of CD34+-selected peripheral blood progenitor cells. *Stem Cells* 25:228–235

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Sina Bartfeld

12.1 Einleitung

Organoide sind aus Stammzellen entstehende, dreidimensionale zelluläre Gebilde, in denen sich Stammzellen, Vorläuferzellen und differenzierte Zellen selbst organisieren. Organoiden werden erfolgreich in der Grundlagenforschung eingesetzt; eine breite Anwendung in der Medikamentenentwicklung, in Toxizitätsstudien und in der personalisierten Medizin zeichnet sich ab. Der Einsatz von Organoiden als Transplantationsmaterial ist im Vergleich dazu noch in den Anfängen. Einzelne Transplantationen werden jedoch an menschlichen Organen *ex vivo* oder sogar im Patienten getestet. In diesem Kapitel wird der Stand der Forschung an Organoiden in der Zelltherapie zusammengefasst.

Der Begriff „Organoid“ wird bereits seit etwa 70 Jahren verwendet und meinte ursprünglich nur „organähnlich“. Im Jahr 2009 erfuhr der Begriff jedoch eine Neudefinition, als die ersten Organoiden aus Stammzellen entstanden – und mit ihnen ganz neue Möglichkeiten für die biomedizinische Forschung.

Organoide können aus zwei Arten von Stammzellen entstehen: Entweder aus pluripotenten Stammzellen („pluripotent stem cells“, PSCs) oder aus adulten Stammzellen („adult stem cells“, ASCs). Zu den PSCs gehören die embryonalen Stammzellen („embryonic stem cells“, ESCs) und die induzierten pluripotenten Stammzellen („induced pluripotent stem cells“, iPSCs). Dies sind die Alleskönner unter den Stammzellen, da sie sich in jeden Zelltyp entwickeln können. Im Gegensatz dazu sind die ASCs Bestandteil von Geweben und sorgen hier für deren Regeneration. Ein Beispiel hierfür ist die Deckschicht des Darms (das Darmepithel),

S. Bartfeld (✉)
Medizinische Biotechnologie, Institut für Biotechnologie,
Technische Universität Berlin, Berlin, Deutschland
e-mail: s.bartfeld@tu-berlin.de

das die Grenze zwischen dem Darmlumen und den Geweben des Körpers bildet. Diese Deckschicht wird dank ASCs etwa alle vier Tage komplett erneuert.

Werden beide Typen von Stammzellen, PSCs oder ASCs, in eine dreidimensionale Matrix platziert, also ein Gerüst aus Proteinen in der Kulturschale, und mit dem richtigen Cocktail aus Wachstumsfaktoren stimuliert, vermehren sich die Stammzellen und generieren Tochterzellen, die zu organisierten Strukturen heranwachsen: kleine Hohlkugeln, jede einzelne je nach Organoidtyp etwa so groß wie ein Mohnsamen oder wie ein Stecknadelkopf. Die Hohlkugel ist nicht komplett rund, sondern es gibt kleine Ausbuchtungen. Sie besteht aus Zellen, eben jenen Zellen, die aus den Stammzellen entstanden sind. Die Zellen übernehmen einige der Aufgaben, wie sie es auch im Körper tun würden. Werden beispielsweise ASCs des Darmepithels kultiviert, entstehen einige Zellen, die den Schleim (Mucus) des Darms produzieren (Becherzellen), und andere, die in der Lage sind, Nährstoffe aufzunehmen (Enterozyten). Aufgrund dieser Ähnlichkeiten zu körpereigenen Organen nannten die Wissenschaftler die kleinen Objekte Organoide (Sato et al. 2009; Eiraku et al. 2011).

Wenig später wurde der Begriff „Organoid“ definiert als eine Struktur mit drei Charakteristika: (i) Ein Organoid besteht aus verschiedenen Zelltypen, (ii) ist in einer der natürlichen Organisation ähnlichen Struktur organisiert und (iii) die Zellen weisen einige der Funktionen des korrespondierenden Organs auf. Diese Funktionen können z. B. die Schleimproduktion oder Fähigkeit zur Aufnahme von Stoffen sein. Heute wird die Abstammung aus Stammzellen ebenfalls als eine der definierenden Eigenschaften von Organoiden angesehen.

Nach den initialen Durchbrüchen wurden in wenigen Jahren die Kulturbedingungen für viele verschiedene menschliche oder tierische Organoide entwickelt. Aus ASCs entstanden Organoide des Darms, Magens, Pankreas, der Leber, Prostata, Brustdrüse, Gallenblase, Lunge, Eierstöcke, des Endometriums, der Nierentubuli und Geschmacksknospen. Aus PSCs entstanden Organoide der Retina und neuronale (oder „zerebrale“) Organoide sowie Organoide des Darms, Magens, Pankreas, der Lunge, Leber und Niere. Die beeindruckende Bandbreite der Organe, die bisher modellierbar sind, wecken die Erwartung, dass letztendlich jedes Organ modellierbar sein wird.

Diese Organoide bilden jeweils verschiedene Aspekte der Organe ab. Sie sind rudimentäre Nachbildungen, die noch sehr weit von einem „echten“ Organ entfernt sind. So haben derzeitige Organoide keine Immunzellen, sind mit Ausnahme der neuronalen Organoide nicht mit Nervenzellen ausgestattet, haben keine Muskelschicht und keine Durchblutung durch Blutgefäße (Vaskularisierung) – wobei natürlich jedes einzelne dieser Themen Gegenstand intensiver Forschung in verschiedenen Laboren ist und entsprechend immer wieder neue Durchbrüche zu verzeichnen sind. Obwohl die Organoide jedoch derzeit noch kein „echtes“ Organ darstellen, haben sie gegenüber existierenden anderen Modellen grundlegende Vorteile (siehe Tab. 12.1).

Diese Vorteile haben dazu geführt, dass Organoide Einzug in vielen biomedizinischen Forschungsfeldern gehalten haben. Organoide werden vielfach als Krankheitsmodelle verwendet, z. B. um Infektionskrankheiten, genetische wie auch komplexe erworbene Krankheiten im Labor nachzustellen. Als Modell in der Medikamentenentwicklung und Toxikologie haben Organoide das Interesse der

Tab. 12.1 Allgemeine Vorteile von Organoiden

Vorteil von Organoiden	Warum ist das wichtig?
Die Zellen sind menschlichen Ursprungs.	Experimentelle Forschung braucht Modelle. Derzeit werden noch viele Experimente an Tiermodellen gemacht. Jedoch stimmt die Physiologie eines Tieres nicht immer mit der menschlichen Physiologie überein. Darüber hinaus sollen Tierversuche aus ethischen Gründen ersetzt werden. Für Transplantationen ist menschliches Material zu bevorzugen, da es weniger Immunreaktionen hervorruft.
Die Zellen sind nicht transformiert, also primär.	Krebszellen tragen genetische Veränderungen, man sagt, sie sind „transformiert“. Im Gegensatz dazu sind die Zellen in Organoiden nicht transformiert, man sagt, sie sind „primär“. Organoide aus ASCs erhalten die genetische Identität des Gewebes, aus dem sie gewonnen werden (z. B. bringt eine Darmstammzelle ein Darmorganoid hervor, aber kein Magenorganoid). Bei iPSCs ist das etwas anders, denn diese werden erst genetisch in den Status der Pluripotenz zurück programmiert. PSCs haben keine festgelegte Identität und können Organoide verschiedener Organe hervorbringen. Während des Prozesses der Pluripotenzinduktion können aber auch unerwünschte genetische Mutationen entstehen und vor einem Einsatz, insbesondere bei einer Transplantation, muss einerseits kontrolliert werden, dass diese Mutationen nicht entstanden sind und andererseits sichergestellt werden, dass nur der gewünschte Organtyp hervorgebracht werden konnte.
Es können auch Organoide von erkrankten Geweben hergestellt werden.	Zusätzlich zu den Organoiden aus gesundem Gewebe können auch Organoide aus den Stammzellen der erkrankten Gewebsregionen erstellt werden, z. B. können von einem Magenkrebspatienten Organoide des gesunden Magengewebes wie auch Organoide des Magentumors erstellt werden, also „gesunde“ und „kranke“ Organoide des gleichen Patienten. Dies ist für die Medikamententestung interessant.
Die Zellen können expandiert werden.	Man kann schon länger primäre Zellen aus Gewebeproben isolieren. Je nach Zelltyp altern und sterben diese Zellen aber in Kultur mehr oder weniger schnell. Bei ASCs sind Organoide die Kulturform, in der sie vermehrt werden. Stammzellen haben die inhärente Fähigkeit sich zu erneuern, und damit kann man sie expandieren. ASCs können aus vielen Geweben isoliert werden und wachsen in einer Matrix mit Wachstumsfaktoren zu Organoiden heran. Diese Organoide enthalten weitere ASCs (und andere, differenzierte Zellen mit verschiedenen organspezifischen Funktionen). Wenn man die Organoide aufbricht und neu aussät, vermehrt man dabei auch die ASCs. Insofern lassen sich ASCs direkt in Form von Organoiden vermehren. Dadurch bekommt die biomedizinische Wissenschaft praktisch unbegrenztes Material, um damit zu forschen. Gleichzeitig ist über diese Vermehrung der Stammzellen die Möglichkeit gegeben, Material für Transplantationen herzustellen. Pluripotente Stammzellen hingegen lassen sich nur als isolierte Stammzellen vermehren, sie müssen somit aktiv in dieser frühen Entwicklungsphase gehalten werden. Die aus PSCs differenzierten Organoide selbst haben nur begrenzte Kapazität zur weiteren Vermehrung.

(Fortsetzung)

Tab. 12.1 (Fortsetzung)

Vorteil von Organoiden	Warum ist das wichtig?
In einem Organoid sind verschiedene Zelltypen vorhanden.	Gewebe sind komplexe Gebilde. Selbst eine einschichtige Lage von Zellen in einem Epithel kann aus verschiedenen Zelltypen bestehen. Jeder Zelltyp hat verschiedene Aufgaben. Verschiedene Zelltypen wirken aufeinander und miteinander. Dank der zellulären Diversität der Organoiden können besondere Eigenschaften, Wirkungen und Interaktionen von Zelltypen untersucht werden. Für Transplantationen könnten sich in einigen Fällen Verbände von Zellen besser eignen als vereinzelt Zellen, beispielsweise wenn bei besonders starker Zerstörung des Empfängerorgans größere Bereiche regeneriert werden müssen (siehe Abschn. „Retina“, 12.2.3).
In Organoiden können Zelltypen wachsen, die bisher in vitro nicht kultivierbar waren.	Verschiedene Zelltypen übernehmen spezielle Funktionen im Körper. Wenn wir sie nicht kultivieren können, können wir sie auch nicht studieren oder transplantieren. Ein Beispiel sind die Cholangiozyten der Leber. Sie können in Organoiden expandiert und dann transplantiert werden (siehe Abschn. „Leber“, 12.2.4).
Organoiden sind spezifisch für Patienten.	Jeder Patient ist individuell und hat einen eigenen genetischen Hintergrund. Krankheitsentstehung, Immunreaktionen und Therapieerfolge sind patientenspezifisch. Oft verstehen wir aber noch nicht, welche Faktoren zu diesen Unterschieden beitragen. Organoiden können aus den Stammzellen eines bestimmten Patienten hergestellt werden, entweder über die Generierung von iPSCs oder direkt aus ASCs. Dabei können Organoiden sowohl von Regionen gesunden als auch erkrankten Gewebes gewonnen werden. Anhand dieser Organoiden können patientenspezifische Pathologien untersucht und (Zell-)Therapien entwickelt und getestet werden.
Organoiden können genetisch modifiziert werden.	Im Gegensatz zu vielen anderen primären Zellen können sowohl PSCs als auch ASCs genetisch modifiziert werden. Entsprechend kann man aus diesen genetisch modifizierten Stammzellen auch Organoiden herstellen. Derzeit ist dies vor allem wichtig für die Untersuchung von Funktionen von einzelnen Genen. So kann man auch Krankheiten nachstellen, indem man die zugrunde liegenden genetischen Mutationen einfügt, um die Krankheit besser zu verstehen. Langfristig wird damit aber auch ermöglicht, genetische Defekte in Patientenzellen zu korrigieren, bevor Zellen für ein Transplantat in Frage kommen.

Pharmafirmen geweckt. Grundlagenforscher untersuchen entwicklungsbiologische Fragestellungen an Organoiden. Darüber hinaus eignen sich Organoiden als alternative Quelle für transplantierbare Zellen oder Gewebe, die im Rahmen der regenerativen Medizin dringend gebraucht werden.

Es gibt bereits kurze Übersichtsartikel zu den Anwendungen von Organoiden allgemein (Bartfeld und Clevers 2018; IAG Gentechnologiebericht/GSCN 2020) und zu Organoiden der verschiedenen Organsysteme (Bartfeld et al. 2020). In diesem Kapitel sollen Organoiden als Ressource für Transplantationen diskutiert werden. Dabei sind Transplantationen von kompletten Organoiden, von Teilen von Organoiden und von aus Organoiden gewonnenen Zellen gemeint.

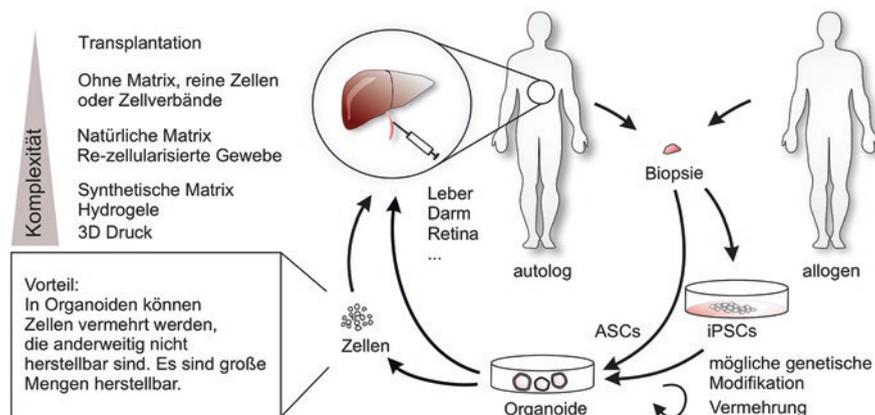


Abb. 12.1 Möglichkeiten des Einsatzes von Organoiden in der Zelltherapie
 Hier ist symbolhaft eine Infusion in die Leber dargestellt, aber es sind viele verschiedene Anwendungen denkbar (siehe Text). Eine Biopsie könnte aus einem Organ entnommen werden, wenn ASCs gewonnen werden sollen, oder es könnte sich um beliebige Zellen handeln (typischerweise Haut- oder Blutzellen), wenn iPSCs gewonnen werden sollen

12.2 Organoide in der Zelltherapie

Da Organoide aus Stammzellen entstehen, können sie aus geringen Mengen an Spenderzellen gezüchtet, in vitro vermehrt und differenziert werden. In der Transplantationsmedizin gibt es nach wie vor einen akuten Mangel an Spenderorganen für Transplantationen. Zudem sind Abstoßungsreaktionen gegenüber allogenen (nicht vom Patienten selbst stammenden) Zellen ein großes Problem. Spender und Empfänger müssen immunologisch zueinander passen, damit Abstoßungsreaktionen vermieden werden können. Es liegt nahe, Organoide auch als Material für Transplantationen allogener und autologer (vom Patienten selbst stammender) Zellen oder möglicherweise in Zukunft auch Gewebe zu verwenden. Dabei könnte es auch möglich werden, krankheitsauslösende Mutationen in vitro mithilfe verschiedener gentechnischer Methoden zu korrigieren, bevor die Organoidkulturen transplantiert werden (siehe Abb. 12.1).

12.2.1 Transplantation im Tiermodell – Anbindung an das Blutssystem

Der Transport von Nährstoffen und Sauerstoff ins Gewebe und die Entfernung von Abfallstoffen sind für die Vermehrung (Proliferation) von Zellen im Gewebe erforderlich. In vitro ist derzeit die begrenzte Verteilung (Diffusion) der Nährstoffe in den Organoiden ein limitierender Faktor für das Wachstum der Organoide. Für experimentelle Transplantationen wird ein Ort bevorzugt, der besonders stark durch-

blutet ist, da sich die vorhandenen Blutgefäße auch auf die eingepflanzten Organoiden ausbreiten. Hierfür wird vor allem die Nierenkapsel verwendet. Sie ist leicht zugänglich, und unter die Nierenkapsel transplantierte Gewebe werden stark durchblutet.

Eine solche Transplantation nennt man ektopisch, also ortsfremd. Im Gegensatz dazu heißen Transplantationen an den Ort der natürlichen Umgebung orthotopisch. Wird beispielsweise ein Darmorganoid ektopisch unter die Nierenkapsel verpflanzt, kann der Versuch Aufschluss darüber geben, ob ein Organoid durchblutet, mit Nerven ausgestattet und in die Umgebung integriert wird und welche Faktoren jeweils dazu beitragen – wichtige Erkenntnisse also, die zum Erfolg einer späteren Transplantation an den funktionell vorgesehenen Orten beitragen. Wird ein Darmorganoid orthotopisch in den Darm verpflanzt, kann der Versuch Aufschluss darüber geben, wie sich die Zellen des Organoids in das Gewebe des Organs einfügen und beispielsweise eine Barrierefunktion übernommen wird.

Für den Erfolg einer experimentellen Transplantation ist das Ausbleiben einer Abstoßungsreaktion wichtig. Daher werden bei diesen Transplantationen im Tiermodell oft Mäuse verwendet, bei denen genetisch eine Immunschwäche besteht. Sie stoßen die Transplantate seltener oder weniger stark ab, als es in normalen Mäusen mit einem intakten Immunsystem der Fall wäre. Nach der erfolgreichen Transplantation im Tier werden einzelne Ansätze bereits heute an menschlichen Organen oder sogar im Menschen getestet.

12.2.2 Darm

Eine der zentralen Fragen bei der Transplantation ist, ob sich die Zellen, die *in vitro* expandiert wurden, auch *in vivo* wieder in das Gewebe integrieren und Funktionen übernehmen können. Hierzu wurden Studien von Forschern in den Niederlanden und Japan durchgeführt. Dickdarmorganoidkulturen der Maus wurden in den Niederlanden aus einer einzelnen Stammzelle gewonnen, eingefroren und nach Japan geschickt. Dort wurden die Organoiden aufgetaut, expandiert und in den Dickdarm von Mäusen transplantiert, deren Darmwand vorher experimentell durch Medikamente stark geschädigt wurde. Bemerkenswerterweise wurde die Funktion der epithelialen Barriere in den transplantierten Mäusen vollständig wiederhergestellt (Yui et al. 2012).

In Japan werden nun die ersten Studien in Patienten durchgeführt. Diese Patienten leiden unter Colitis Ulcerosa, einer chronischen Krankheit, bei der die Darmbarriere lokal durch immer wiederkehrende Entzündungsreaktionen zerstört wird. Im Labor werden die ASCs des Patienten isoliert und daraus Organoiden hergestellt. Nach ausreichender Expansion der Organoiden werden dem Patienten die Organoiden oder Zellen aus diesen in den Darm transplantiert. Die Ergebnisse dieser Studie sind bisher noch nicht in einem wissenschaftlichen Journal veröffentlicht, die Universität hat aber in einer Pressemitteilung von vielversprechenden Ergebnissen berichtet (TMDU 2022).

Zusätzlich wird ein weiterer Ansatz verfolgt, der bekannte Technologien des Tissue Engineering mit der Organoidtechnologie verbindet. Hierbei werden natürliche Gewebe (entweder aus Organspenden, die nicht für Transplantationen verwendet werden können, oder aus tierischen Organen) vollständig von Zellen befreit und sterilisiert. Zurück bleibt ein zellfreies oder dezellularisiertes Gewebe, also das Gerüst aus extrazellulärer Matrix. In dieses Gerüst können dann Zellen aus Organoiden oder anderen Quellen eingesät und so die Gewebe wieder neu aufgebaut werden (Meran et al. 2020). Dies hat den Vorteil, dass die empfangenfremden, allogenen Materialien nur als Gerüst verwendet werden und mit empfangereigenen, autologen Zellen kombiniert werden, um ein Transplantat zu schaffen, das einerseits eine größtmögliche Komplexität aufweist, aber andererseits möglichst keine Abstoßung hervorruft. Die Matrix ruft nämlich sehr viel weniger Abstoßungsreaktionen hervor als Zellen, da hier wichtige immunogene Faktoren fehlen. So konnte ein rekonstruiertes Stück Darm nach einer ektopischen Transplantation in der Maus zwei Wochen lang überleben (Meran et al. 2020). Dieser Ansatz wird derzeit in Tierversuchen getestet und auch für andere Organe wie beispielsweise die Lunge verfolgt.

12.2.3 Retina

Seit Jahrzehnten untersuchen Forscher, wie sich die Zellen in der Retina, der Netzhaut des Auges, selbst organisieren – und dank langjähriger Erfahrung sind Zellersatztherapien für Krankheiten der Retina bereits weit fortgeschritten. Die Retina ist aus zwei Schichten aufgebaut – einer Schicht aus retinalen, pigmentierten Epithelzellen, die Reize wahrnehmen können, und einer Schicht aus neuronalen Zellen, die diese Reize weiterleiten können. Schon in den frühen 1960er-Jahren wurden diese Zelltypen aus Hühnerretina isoliert und *in vitro* wieder zusammengebracht. Die Ergebnisse zeigten eine faszinierende Robustheit der retinalen Selbstorganisation *in vitro*. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurden 2011 aus PSCs die ersten Organoide des Augenbeckens entwickelt, die einer Retina im frühen Entwicklungsstadium ähneln (Eiraku et al. 2011).

Retinale Organoide könnten in Zukunft zur Behandlung bestimmter Arten von Netzhautdegeneration und Blindheit eingesetzt werden. In klinischen Studien werden derzeit Therapien evaluiert, bei denen aus Stammzellen generierte Zellen transplantiert werden, ohne dabei Organoide zu generieren, denn Zellen der Retina können auch ohne Organoidtechnologie hergestellt werden (siehe Zimmermann et al., Kap. 13). Alternativ kann man aber auch die Zellen der Retina in Organoiden herstellen. Der Vorteil dabei ist, dass hier die Zellen im Verband als Gewebe transplantiert werden könnten. Erste Ergebnisse aus Tierexperimenten weisen darauf hin, dass besonders bei fortgeschrittenen Stadien mit weitreichenderer Zerstörung der Retina eine Transplantation im Gewebe erfolgversprechender sein könnte (Asawachananont et al. 2014; Mandai et al. 2017).

12.2.4 Leber

Nach der Niere ist die Leber das am häufigsten transplantierte Organ und entsprechend hoch ist der aktuelle Bedarf bzw. Mangel an Spenderorganen, sodass dringend Alternativen benötigt werden. Sowohl aus PSCs als auch aus ASCs können Leberorganoiden hergestellt werden und beide wurden experimentell im Tier und ex vivo in der menschlichen Leber für Transplantationen verwendet. Im Vergleich werden hier die Unterschiede zwischen ASCs und PSCs besonders deutlich: Die Organoiden aus ASCs sind vor allem eine Methode, um Zellen zu expandieren, die dann in ein bestehendes Organ transplantiert werden. Die Organoiden aus PSCs können komplexe Strukturen mit Bindegewebe und Blutgefäßen bilden, die sogar als komplette Organoiden transplantiert werden können.

Um möglichst komplexe Organoiden aus PSCs herzustellen, wurden aus PSCs generierte Leberzellen mit zwei weiteren Zelltypen kombiniert: Den mesenchymalen Stromazellen, aus denen Bindegewebe entsteht, und menschlichen Endothelzellen, die die Blutgefäße auskleiden (Nabelschnur-Vaskularendothelzellen, HUVECs). Die Co-Kulturen der drei Zelltypen organisierten sich selbst in 3D-Kulturen zu kleinen „Leberknospen“. Wurden diese Leberknospen ektopisch in die Maus transplantiert, so konnte sich das Blutgefäßsystem der Organoiden mit dem der Mäuse verbinden. Dadurch konnten die Organoiden einige begrenzte Funktionen übernehmen, z. B. konnten die Mäuse dann Medikamente verstoffwechseln, die nur menschliche, aber nicht Leberzellen von Mäusen verarbeiten können (Takebe et al. 2013).

Organoiden aus ASCs wurden hingegen verwendet, um funktionelle Zellen zu gewinnen, die dann in die Leber transplantiert wurden. Für die Transplantation in die Leber verwendet man gerne den Vorteil, dass die Leber stark von Gefäßen durchzogen ist. Daher werden die zu transplantierenden Zellen über eine Infusion in die Leber eingespült (siehe Abb. 12.1). Organoiden als größere Objekte wären für diese Technik nicht gut geeignet, da sie die Gefäße verstopfen würden. Daher bricht man vor der Transplantation die Organoiden in einzelne Zellen auf. Für diese Versuche wurden also Zellen der Leber entnommen, als Organoiden in vitro expandiert, die Organoiden erneut in einzelne Zellen aufgebrochen und über das Blutgefäßsystem wieder in die Leber gespült.

Mit dieser Technik konnte gezeigt werden, dass murine Organoidzellen erfolgreich in Mäuse transplantiert werden können, die ein mutiertes Gen für ein bestimmtes Enzym tragen. Diese Mäuse sind ein Modell für die Lebererkrankung Tyrosinämie Typ I. Unbehandelte Mäuse sterben aufgrund einer schwerwiegenden Leberinsuffizienz. Nach Transplantation mit Organoidzellen steigt die Überlebensrate der Mäuse, was zeigt, dass die Zellen der Organoiden die fehlende Funktion ausgleichen können. Mit der gleichen Technologie können auch Organoidzellen aus menschlichen Stammzellen in die Mausleber transplantiert werden (Huch et al. 2015). Diese ersten Transplantationen im Tier waren jedoch insgesamt recht ineffizient und nur verhältnismäßig wenig Zellen wuchsen im Empfängerorgan an.

In einem jüngsten Durchbruch zeigte eine andere Forschergruppe, dass Zellen aus Organoiden bis zu 85 % des Gewebes regenerieren können. Jene Studie fokussierte auf die Fähigkeit der Leber, Galle zu produzieren. Die Hepatozyten der Leber produzieren die Galle und geben sie dann in Gallengänge ab. Die Zerstörung der Gallengänge ist eine der häufigsten Ursachen dafür, dass ein Lebertransplantat benötigt wird. Die Zellen, die diese Gänge auskleiden, heißen Cholangiozyten. Auch sie können in Form von Organoiden expandiert werden. In besagter Studie wurden menschliche Spenderlebern nach der Entnahme der Organspende (also außerhalb des Körpers, *ex vivo*) im Labor mit den Zellen aus Organoiden durchströmt. Je nach Empfängerleber konnten dabei 40–85 % der Gallengänge der Leber regeneriert werden (Sampaziotis et al. 2021).

Interessanterweise wurden diese Erfolge nicht erzielt, wenn schon ausdifferenzierte Cholangiozyten aus einem anderen Gewebe (der Gallenblase, wo dieser Zelltyp auch vorhanden ist) isoliert und dann transplantiert wurden. Die Wissenschaftler vermuten, dass das daran liegt, dass die Isolation Stress für die Zellen bedeutet und sie sich in der Folge weniger gut transplanzieren lassen. Der Zwischenschritt der Expansion über Organoide würde hier also nicht nur die Zellen vermehren, sondern die Zellen auch stressfreier für die Transplantation vorbereiten – und somit dann das regenerative Potenzial besser ausschöpfen (Sampaziotis et al. 2021).

12.2.5 Pankreas

Die Herstellung von insulinproduzierenden Zellen hat eine immense Bedeutung für die Zellersatztherapie in der Behandlung von Diabetes (siehe Zimmermann et al., Kap. 13). Wesentliche Fortschritte waren die Entwicklung verschiedener Protokolle, mit denen PSCs (iPSCs oder ESCs) zu Zellen differenziert werden, die Insulin produzieren (sekretieren) können, und dann die Weiterentwicklung dieser Protokolle, um Zellen zu generieren, die auf wiederholte Glukosezugabe mit Insulinsekretion reagieren, also nicht nur generell Insulin produzieren können, sondern darüber hinaus die Sekretion ähnlich steuern wie natürliche β -Zellen (Melton 2021). Im Vergleich zu diesen Ergebnissen aus der PSC-Differenzierung, befindet sich die Organoidtechnologie in Bezug auf diese spezielle Anwendung noch in ihren Anfängen und wird weiterentwickelt.

Aus ASCs oder Vorläuferzellen des Pankreas können Organoide erzeugt werden. Die Zellen in den Organoiden haben grundsätzlich das Potenzial, in hormonproduzierende (endokrine) Zellen zu differenzieren, jedoch ist die Generierung von vollständig ausgereiften insulinsekretierenden Zellen aus den adulten Vorläuferzellen des Pankreas noch ineffizient, und die Protokolle müssen verbessert werden (Casamitjana et al. 2022).

Interessanterweise können auch Zellen des Magens Insulin produzieren und kämen damit für eine Zellersatztherapie in Frage. Ebenso wie aus dem Pankreas

können auch die ASCs des Magens Organoide formen, expandiert und zu endokrinen Zellen differenziert werden. Eine aktuelle Studie zeigt, dass in den gastrischen Organoiden (also Organoiden des Magens) auch insulinproduzierende endokrine Zellen erzeugt werden können. Durch eine Transplantation dieser gastrischen insulinproduzierenden Zellen in diabetische Mäuse konnte der Glukosehaushalt der Mäuse über 100 Tage stabil gehalten werden (Huang et al. 2023). Diese Studien lassen hoffen, dass adulte Organoide ebenfalls eine Ressource von transplantierbaren insulinproduzierenden Zellen sein könnten.

12.2.6 Niere

Aus PSCs können beeindruckend komplexe Nierenorganoide hergestellt werden, die für die Grundlagenforschung in den Bereichen der Entwicklung und Erkrankung der Niere, auch in Toxizitätsstudien oder Medikamententests von unschätzbarem Nutzen sind. Es besteht auch die Hoffnung, dass diese Nierenorganoide eines Tages eine alternative Ressource für Transplantationsmaterial darstellen können. Jedoch sind die derzeit erreichten Stadien von Nierenorganoiden noch nicht ausreichend für funktionelle Transplantationen. Probleme sind dabei noch die nicht vollständig ausgereiften Zellen, eine gewisse Heterogenität zwischen Organoiden und insbesondere die Anbindung an das Gefäßsystem des Empfängers. Diese Durchblutung der Organoide ist insbesondere bei der Niere wichtig, da die Funktion der Niere darin besteht, das Blut zu filtrieren und den zunächst erzeugten Primärharn aufzukonzentrieren, wofür nicht nur das generelle Vorhandensein einer Durchblutung essenziell ist, sondern diese Blutgefäße müssen auch in komplexen Anordnungen mit den anderen Bestandteilen der Niere sinnvoll interagieren. Dies stellt eine besondere Herausforderung dar. Derzeit werden Nierenorganoide im Mausmodell experimentell ektopisch transplantiert, wobei eine beginnende Durchblutung erreicht wird. Dies ist die Grundlage für weitere Experimente (Gupta et al. 2020).

12.2.7 Lunge

Organoiden der Lunge können sowohl aus ASCs als auch aus PSCs gewonnen werden. Es gibt Organoide der verschiedenen Abschnitte der Lunge, Trachea, Bronchen oder Lungenbläschen (Alveolen) sowie Kombinationen, beispielsweise bronchoalveolare Organoide mit zentralen Broncheolen, von denen dann Lungenbläschen abgehen. In frühen Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass vereinzelte Zellen aus Organoiden nach Transplantation auch in die Lunge integrieren können (Miller et al. 2018). Ähnlich wie in anderen Organen ist auch hier für den Ersatz von Gewebe die Anbindung an das Gefäßsystem entscheidend für die Funktion des Gewebes. Die Durchblutung der Organoide ist derzeit aber nicht ausreichend für eine Versorgung des Gewebes und auch nicht für den in den Lungenbläschen essenziellen Austausch von Gas. Die Verbesserung der Durchblutung der Organoide wird derzeit noch in der ektopischen Transplantation im Tiermodell getestet.

12.2.8 Neuronale Organoide¹

Die Biologie des menschlichen Gehirns ist ein faszinierendes Forschungsgebiet und Organoide bieten ein bisher beispielloses In-vitro-Modell, um die Entwicklung des Gehirns, die Entstehung der Komplexität und die Interaktion der verschiedenen Zelltypen zu analysieren (Lancaster et al. 2013). Neuronale Organoide können nur aus PSCs, nicht aus ASCs gewonnen werden. Um die Organoide komplexer zu machen, werden verschiedene weitere Zelltypen hinzugegeben, die in die Organoide integrieren können. So wurden Neuronen unterstützende Zellen (Mikroglia) oder aus Stammzellen gebildete Blutgefäße (vaskuläre Organoide) zu den Kulturen hinzugefügt. Ähnlich können neuronale Organoide, die verschiedene Hirnregionen repräsentieren und entsprechend verschiedene Typen von Nervenzellen beinhalten, miteinander kombiniert werden, um die Interaktion der Zelltypen zu untersuchen. So wurden Organoide, die die beiden Hirnregionen Striatum- und Mittelhirn repräsentieren, miteinander kombiniert, um das Zusammenspiel der Neuronen zu untersuchen (Pasca 2019). Derartig zusammengesetzte Organoide werden auch Assembloide genannt.

Eine Transplantation von neuronalen Organoiden oder darin expandierten Zellen ist prinzipiell bei neurodegenerativen Krankheiten wie etwa Morbus Parkinson denkbar. Eine Transplantation von iPSCs-abgeleiteten neuronalen Organoiden in den frontoparietalen Kortex (einen Teil der Großhirnrinde) von Mäusen erhöhte die Überlebensrate der Tiere und das Transplantat wurde besser durchblutet, als wenn nur neuronale Vorläuferzellen statt eines komplexen Organoids transplantiert wurden. Die Ursachen für die bessere Durchblutung sind noch unbekannt (Daviaud et al. 2018). Eine Transplantation von humanen PSC-abgeleiteten neuronalen Organoiden in den primären somatosensorischen Kortex von immundefizienten Ratten zeigte, dass die Zellen der Organoide in die sensorischen Schaltkreise des Tieres integriert wurden (Mansour et al. 2018; Revah et al. 2022).

Die Durchblutung, zelluläre Differenzierung und Anbindung an das Empfängerorgan müssen noch deutlich besser verstanden werden, um neuronale Organoide in Zukunft als Ersatzmaterial für progressive Erkrankungen des zentralen Nervensystems und neurodegenerative Krankheiten zu verwenden.

12.2.9 Haut, Haar, Talg- und Schweißdrüsen

Seit vielen Jahren wird aus Stammzellen gewonnener Hautersatz für Transplantationen bei Verbrennungsopfern eingesetzt. Dies ist eine herausragende Errungenschaft der regenerativen Medizin. Es gibt jedoch auch hier Raum für Verbesserungen. Die derzeit in der Klinik verwendeten Ersatztherapien bilden keine Haare, keine Schweiß- oder Talgdrüsen und keine Anbindung an die sensorischen Nervenbahnen, was die Funktionalität der Transplantate, beispielsweise hinsichtlich der Thermoregulation oder der Empfindsamkeit, deutlich einschränkt (Hosseini et al. 2022).

¹Auf ethische Fragen zu Hirnorganoiden wird ausführlich in Bartfeld et al. (2020) eingegangen.

Aber auch hier sind in der Organoidforschung neue Durchbrüche erzielt worden. Aus PSCs konnten beeindruckende Organoiden entwickelt werden, in denen Haarwurzeln mit Haaren und Talgdrüsen entstehen. Um die Haarfollikel bildete sich ein rudimentäres Netzwerk aus sensorischen Nervenzellen. Bei einer Transplantation formten die Organoiden Abschnitte menschlicher Haut mit Haaren, integriert in die Haut der Mäuse (Lee et al. 2020). Erste Versuche mit Schweißdrüsen von Mäusen lassen vermuten, dass sich auch diese Strukturen mit Organoiden vermehren lassen könnten (Diao et al. 2019). Es muss jedoch noch eine Technologie entwickelt werden, um diese komplexen Strukturen in Hautersatztransplantate einzubinden.

12.3 Biomaterialien

Im Körper sind die meisten Zellen in einer extrazellulären Matrix verankert und nur wenige Zellen, beispielsweise Blutzellen, zirkulieren frei im Körper. Diese Matrix wird von den Bindegewebszellen produziert und besteht aus Proteinen, Proteoglycanen und Glycoproteinen, z. B. Kollagen, Elastin, Laminin und anderen. Viele dieser Moleküle bilden lange, vernetzte Ketten, sodass ein dichtes Netzwerk entsteht – eben eine Matrix. Die Zellen der Deckgewebe sind über membranständige Proteine in dieser Matrix verankert. Organoiden werden derzeit in einer natürlichen, in Mäusen hergestellten Matrix kultiviert. Die letzten beiden Dekaden der Forschung haben gezeigt, dass es eine außergewöhnliche Herausforderung darstellt, eine künstliche Matrix zu entwickeln, die alle Aufgaben einer natürlichen Matrix erfüllt.

Ein vielversprechender Ansatz zeigte, dass synthetische Hydrogele, die degradierbar sind, Organoiden begrenztes Wachstum erlauben (Gjorevski et al. 2016; Cruz-Acuña et al. 2017; Chrisnandy et al. 2022). Ein weiterer verfolgter Ansatz ist es, Gewebe von (tierischen oder menschlichen Spender-) Organen zu dezellularisieren und die verbleibenden zellfreien Gerüste zu Hydrogelen zu verarbeiten. Wie bereits im Abschn. 12.2.2 (Darm) kurz erwähnt, sind dezellularisierte Matrizes weit weniger immunogen als Zellen (Giobbe et al. 2019). Dies liegt daran, dass Zellen ihre Proteine ständig dem Immunsystem präsentieren, und durch diese Präsentation eine Immunreaktion und Abstoßung hervorrufen können. Eine Matrix ohne Zellen ist nur von Zellen sekretiertes Material, aber keine Zelle selbst. Da nur Zellen diese Präsentation durchführen, findet die Präsentation in der Matrix ohne Zellen nicht statt. Daher ist es deutlich unwahrscheinlicher, dass eine Immunreaktion und damit die Abstoßung ausgelöst wird. Beide Arten von Hydrogelen erlauben eine limitierte Expansion von Organoiden und werden derzeit *in vitro* getestet und optimiert.

Die weitere Entwicklung von Biomaterialien ist im Hinblick auf Transplantationen ein wichtiges Zukunftsfeld. In Kombination mit dem 3D-Biodruck ergibt sich hier in Zukunft die Möglichkeit, aus Stammzellen oder Organoiden gewonnene Zellen in vorgegebene 3D-Strukturen zu drucken, die auch für Transplantationen eingesetzt werden könnten.

12.4 Genetische Modifikation von Organoiden

Organoide können durch die gängig verwendeten Methoden genetisch verändert werden, z. B. mit CRISPR („Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats“; „CRISPR/CRISPR associated protein 9“; Cas9) (siehe Fehse et al., Kap. 7). Dies erlaubt zum einen, genetische Erkrankungen und Krebs in der Grundlagenforschung zu studieren. Zum anderen bietet es in der Zukunft die Möglichkeit, gentherapeutische Ansätze zu ermöglichen.

In einer frühen Studie wurde das CRISPR/Cas9-System zur Behandlung von Darmorganoiden von Patienten mit Mukoviszidose eingesetzt. Hierzu wurden aus Darmbiopsien von Patienten Organoide abgeleitet und *in vitro* zum Wachsen gebracht. Da die Patienten in allen Zellen des Körpers dieselbe Mutation im Cystic-Fibrosis-Transmembrane-Conductance-Regulator(CFTR)-Lokus tragen, weisen auch alle Zellen der Organoide diese Mutation auf. In den Organoiden wurde dann die Mutation im CFTR-Lokus mithilfe der CRISPR/Cas9-Technologie korrigiert. Die Funktion des CFTR war in den korrigierten Organoiden wiederhergestellt (Schwank et al. 2013). Diese Experimente zeigten, dass prinzipiell eine genetische Modifikation in Organoiden möglich ist. Es sind jedoch weitere Studien *in vivo* erforderlich, um zu verstehen, ob die Transplantation von genetisch modifizierten oder gesunden Organoidkulturen die Funktion von Gewebe ersetzen kann.

12.5 Zusammenfassung und Ausblick

Organoide wurden in den letzten Jahren als 3D-Gewebekultursysteme sehr populär und werden daher vielfältig eingesetzt in der Grundlagenforschung, Medikamentenentwicklung, personalisierten Medizin und in der regenerativen Medizin. In der regenerativen Medizin sind Organoide eine attraktive Technologie, da aus Stammzellen unbegrenztes zelluläres Material für allogene oder autologe Transplantationen hergestellt werden kann. Bei der iPSC-Technologie muss dabei über eine genetische Reprogrammierung der Zellen erst das Stadium der Pluripotenz erreicht werden, um dann wieder eine Differenzierung zu induzieren. Bei der ASC-Technologie können aus einer Biopsie des Gewebes direkt ohne Reprogrammierung Organoide gewonnen werden.

Bestehende zentrale Anforderungen an Zelltherapien aus Stammzellen müssen auch an Zelltherapien aus Organoiden gestellt werden. Grundvoraussetzungen sind, (i) dass die Zellen über lange Zeiträume genetisch stabil in Zellkultur vermehrbar sind, (ii) dass die Produkte sicher sind, also keine entarteten Zellen, fremde Zellen oder tierische Produkte enthalten, (iii) dass die Transplantate die gewünschten Funktionen größtmöglich erfüllen und immunverträglich sind (Wobus et al. 2006). Hierbei ist hervorzuheben, dass die Wahrscheinlichkeit von Entartungen bei ASCs geringer ist als bei PSCs, da bei ASCs keine Reprogrammierung nötig ist.

Vorteile der Organoidtechnologie sind, dass patientenspezifisch schwer herzustellende Zelltypen vermehrt und gewonnen werden können. Ein Beispiel hierfür sind die Zellen der Gallengänge in der Leber (Cholangiozyten) oder die Zellen des Darmepithels, die beide in Form von Organoiden vermehrt werden können und nach Transplantation in das bestehende Gewebe integrieren. Ein weiterer wichtiger Vorteil ist, dass Zellen direkt im Gewebsverband mit begrenzter Komplexität kultiviert und als kleine Gewebsverbände transplantiert werden können. Ein Beispiel hierfür sind die Transplantationen der Retinagewebsverbände.

Komplexere Gewebsverbände, die aus mehreren Schichten verschiedener Gewebe bestehen wie Deckgewebe, Bindegewebe mit Durchblutung, Muskelgewebe und Nerven, sind derzeit noch nicht erreicht. Hierfür ist ein möglicher Ansatz, dass bestehende Gewebe dezellularisiert und neu aufgebaut werden. Ein Beispiel hierfür ist der Darm. Ein limitierender Faktor ist eine funktionelle Durchblutung von komplexen Gewebsverbänden. Dies ist besonders schwierig bei Transplantationen von Geweben, in denen der Durchblutung besondere Bedeutung zukommt, beispielsweise der Niere, bei der eine Filtration des Blutes erreicht werden muss.

Bei der Herstellung von komplexen Strukturen kann auch der 3D-Druck mit Biomaterialien in Zukunft eine führende Rolle übernehmen. Hierbei werden biologische Materialien mit einem 3D-Drucker in eine vorgegebene Form gedruckt. Dabei kann entweder erst eine Matrix gedruckt werden, die dann später mit Zellen besiedelt wird, oder direkt Zellen mit eingedruckt werden. Es ist denkbar, dass in Zukunft einfache Gewebe als gedruckte Ersatzteile transplantiert werden könnten.

Insgesamt bieten Organoide eine vielversprechende Quelle, um in Zukunft Zellmaterial oder kleine Gewebsverbände für Transplantationen zu liefern. Bis zur Transplantation eines kompletten Organs, das aus Organoiden abgeleitet wurde, ist es aber noch ein weiter Weg.

Literatur

- Assawachananont J et al (2014) Transplantation of embryonic and induced pluripotent stem cell-derived 3D retinal sheets into retinal degenerative mice. *Stem Cell Reports* 2:662–674
- Bartfeld S, Clevers H (2018) Aus Stammzellen abgeleitete Organoide und ihre Bedeutung für die biomedizinische Forschung und Therapie. In: Zenke M et al (Hrsg) *Stammzellforschung. Aktuelle wissenschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen*. Forschungsberichte der interdisziplinären Arbeitsgruppen der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften. Nomos, Baden-Baden, S 90–96
- Bartfeld S et al (Hrsg) (2020) *Organoide. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft*. Forschungsberichte der interdisziplinären Arbeitsgruppen der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften. Nomos, Baden-Baden
- Casamitjana J et al (2022) Pancreatic organoids for regenerative medicine and cancer research. *Front Cell Dev Biol* 10:886153
- Chrisnandy A et al (2022) Synthetic dynamic hydrogels promote degradation-independent in vitro organogenesis. *Nature Materials* 21(4):479–487
- Cruz-Acuña R et al (2017) Synthetic hydrogels for human intestinal organoid generation and colonic wound repair. *Nat Cell Biol* 19(11):1326–1335
- Daviaud N et al (2018) Vascularization and engraftment of transplanted human cerebral organoids in mouse cortex. *ENeuro* 5(6):ENEURO.0219-18.2018

- Diao J et al (2019) Sweat gland organoids contribute to cutaneous wound healing and sweat gland regeneration. *Cell Death Dis* 10(3):238
- Eiraku M et al (2011) Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature* 472:51–56
- Giobbe GG et al (2019) Extracellular matrix hydrogel derived from decellularized tissues enables endodermal organoid culture. *Nat Commun* 10(1)
- Gjorevski N et al (2016) Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature* 539(7630):560–564
- Gupta N et al (2020) 3-D-Nierenorganoide für die Translation neuen Wissens vom Labor in die Klinik („bench to bedside“). In: Bartfeld S et al (Hrsg) *Organoide. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft*. Nomos, Baden-Baden, S 126–130
- Hosseini M et al (2022) Biofabrication of human skin with its appendages. *Adv Healthcare Mater* 11(22):2201626
- Huang X et al (2023) Stomach-derived human insulin-secreting organoids restore glucose homeostasis. *Nat Cell Biol* 25(5):778–786
- Huch M et al (2015) Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell* 160:299–312
- IAG Gentechnologiebericht/GSCN (Hrsg) (2020) *Organoide – von der Stammzelle zur zukunftsweisenden Technologie*. Unter: <https://www.gentechnologiebericht.de/publikationen/white-paper-organoide-2020>. Zugriffen am 09.07.2023
- Lancaster MA et al (2013) Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 501(7467):373–379
- Lee J et al (2020) Hair-bearing human skin generated entirely from pluripotent stem cells. *Nature* 582(7812):399–404
- Mandai M et al (2017) iPSC-derived retina transplants improve vision in rd1 end-stage retinal-degeneration mice. *Stem Cell Reports* 8:69–83
- Mansour AA et al (2018) An in vivo model of functional and vascularized human brain organoids. *Nat Biotechnol* 36:432–441
- Melton D (2021) The promise of stem cell-derived islet replacement therapy. *Diabetologia* 64:1030–1036
- Meran L et al (2020) Engineering transplantable jejunal mucosal grafts using patient-derived organoids from children with intestinal failure. *Nature Medicine* 26(10):1593–1601
- Miller AJ et al (2018) In vitro induction and in vivo engraftment of lung bud tip progenitor cells derived from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep* 10:101–119
- Pasca SP (2019) Assembling human brain organoids. *Science* 363(6423):126–127
- Revah O et al (2022) Maturation and circuit integration of transplanted human cortical organoids. *Nature* 610(7931):319–326
- Sampaziotis F et al (2021) Cholangiocyte organoids can repair bile ducts after transplantation in the human liver. *Science* 371(6531):839–846
- Sato T et al (2009) Single Lgr5 stem cells build crypt villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 459:262–265
- Schwank G et al (2013) Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell* 13:653–658
- Takebe T et al (2013) Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature* 499:481–484
- TMDU = Tokyo Medical and Dental University (2022) The Tokyo Medical and Dental University (TMDU) team succeeded with the world’s first mini organ transplantation to a patient with „Ulcerative Colitis“ (UC). Pressemitteilung vom 07.07.2022. Unter: <https://www.tmd.ac.jp/english/press-release/20220707-1/>. Zugriffen am 08.06.2023
- Wobus AM et al (Hrsg) (2006) *Stammzellforschung und Zelltherapie. Stand des Wissens und der Rahmenbedingungen in Deutschland*. Supplement zum Gentechnologiebericht. Spektrum, München
- Yui S et al (2012) Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5 + stem cell. *Nature Medicine* 18:618–623

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Zelltypen aus menschlichen pluripotenten Zellen und deren Anwendung in Zelltherapien

13

Wolfram-Hubertus Zimmermann, Marius Ader,
Daniel Besser, Romy Kronstein-Wiedemann, Heiko Lickert,
Elke Schlüssel, Jessica Thiel und Torsten Tonn

13.1 Einleitung

Pluripotente Stammzellen (PS-Zellen)¹ des Menschen wurden erstmals in den 1990er-Jahren aus der inneren Zellmasse von Präimplantationsembryonen unter Anwendung zuvor in der Maus und im nicht-humanen Primaten etablierter Techniken gewonnen (Thomson et al. 1998). Durch Selektion pluripotenter Zellen und deren klonaler Vermehrung wurden die ersten menschlichen embryonalen Stamm-

¹Als PS-Zellen werden Stammzellen mit einem eingeschränkten Entwicklungspotenzial bezeichnet, d. h. aus PS-Zellen können keine Embryonen mit Entwicklungspotenzial bis hin zu einem lebensfähigen Menschen entwickelt werden.

W.-H. Zimmermann (✉)

Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universitätsmedizin Göttingen,
Göttingen, Deutschland

e-mail: w.zimmermann@med.uni-goettingen.de

M. Ader

CRTD – Center für Regenerative Therapien Dresden, Center für Molekulares und Zelluläres Bioengineering (CMCB), Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland

D. Besser

German Stem Cell Network (GSCN), Berlin, Deutschland

R. Kronstein-Wiedemann · J. Thiel · T. Tonn

Institut für Transfusionsmedizin Dresden, DRK Blutspendedienst Nord-Ost gGmbH,
Dresden, Deutschland

H. Lickert

Institut für Diabetes und Regenerationsforschung (IDR), Helmholtz Zentrum München,
Campus Neuherberg, Neuherberg, Deutschland

E. Schlüssel

Helmholtz Zentrum München, Campus Neuherberg, Neuherberg, Deutschland

zellen (ES-Zellen) entwickelt. Basierend auf einem tiefen Verständnis der für den Pluripotenzertalt notwendigen molekularen Mechanismen gelang es Takahashi und Yamanaka, Transkriptionsfaktoren zu identifizieren, die bei kombinierter Anwendung als „OKSM“ (Oct3/4, Klf4, Sox2, c-Myc) somatische Zellen (z. B. Hautzellen) in sog. induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen) reprogrammieren können (Buganim et al. 2013). Die Erstbeschreibung erfolgte im Mausmodell (Takahashi und Yamanaka 2006) und kurz darauf im Menschen (Takahashi et al. 2007).

ES- und iPS-Zellen sind hinsichtlich ihres Entwicklungspotentials als weitestgehend gleichwertig einzustufen. Der Begriff PS-Zellen umfasst ES- und iPS-Zellen. PS-Zellen können unter Erhalt ihrer Pluripotenz vermehrt und in alle Zelltypen des Organismus differenziert werden. Der kontrollierte Erhalt der Pluripotenz wie auch die gezielte Differenzierung erfordern den Einsatz definierter Kulturbedingungen.

Dass heute nach nur ca. 20 Jahren seit Erstbeschreibung bereits differenzierte Zellprodukte aus menschlichen PS-Zellen in der klinischen Erprobung sind, ist bemerkenswert. Zum Vergleich: Die Entwicklung der heute wichtigsten Medikamente hat im Mittel etwa 30 Jahre gedauert (Spector et al. 2018). Herausforderungen auf dem Weg in die klinische Anwendung von Zellprodukten aus menschlichen PS-Zellen sind insbesondere (1) die Herstellung reiner therapie-relevanter Zelltypen in einem klinisch nutzbaren Maßstab und (2) die Entwicklung von Verfahren für die sichere Anwendung und spezifische Integration der aus PS-Zellen abgeleiteten differenzierten Zelltypen. Zugleich war und bleibt eine kontinuierliche Erforschung von Wirkmechanismen essenziell, um optimale Resultate zu erzielen. Hier sei darauf hingewiesen, dass auch bei Medikamenten der Regelversorgung immer Wissenslücken bestehen, die durch begleitende Forschung geschlossen werden müssen, um Wirkungen zu optimieren und Nebenwirkungen zu reduzieren.

Klar ist bereits heute, dass die Anwendung von aus PS-Zellen des Menschen abgeleiteten Arzneimitteln die Therapie von bisher nur unzureichend behandelbaren Erkrankungen („unmet medical need“) radikal verändern wird. Erste klinische Studien mit aus ES-Zellen abgeleiteten Zellprodukten wurden bereits vor ca. 10 Jahren gestartet (Mandai et al. 2017; Menasché et al. 2018). In Deutschland wurde die erste Studie zur Anwendung von aus iPS-Zellen abgeleiteten Zellprodukten 2020 genehmigt und 2021 an den Universitätskliniken in Göttingen und Lübeck gestartet.² In diesem Kapitel werden verschiedene Anwendungsfelder für Zellpräparate aus pluripotenten Stammzellen im Bereich der regenerativen Medizin aufgezeigt und die GMP³-konforme Herstellung zum Einsatz in Patienten dargestellt.

²Siehe BioVAT-HF-DZHK20, NCT04396899: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04396899> [10.07.2023].

³„Good Manufacturing Practice“ (gute Herstellungspraxis, zwingend vorgeschriebener Standard bei der Arzneimittelherstellung).

13.2 Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) aus pluripotenten Stammzellen

Bereits bei der Einführung menschlicher embryonaler Stammzellen (ES-Zellen) wurde von deren Differenzierung in quergestreifte Muskultur nach Injektion in die Beinmuskulatur von immunkomprimierten Mäusen berichtet (Thomson et al. 1998). Wenige Jahre später konnte die Arbeitsgruppe um Lior Gepstein über sog. Embryoidkörperkulturen („embryoid bodies“) den Nachweis der Entwicklung von ES-Zellen in Herzmuskelzellen in der Kulturschale erbringen (Kehat et al. 2001). Heute werden Herzmuskelzellen aus pluripotenten Stammzellen über gezielte Differenzierungen unter Anwendung (1) kleiner Moleküle für die phasenspezifische Modulation des Wnt-Signalwegs⁴ und/oder (2) definierter Wachstumsfaktoren für die „physiologische“ Stimulation von für die embryonale Herzentwicklung wichtigen Signalwegen abgeleitet (Burridge et al. 2012). Diese Prozesse sind skalierbar und erlauben so die Herstellung der für therapeutische Anwendungen nötigen Zellmengen (Riegler et al. 2015); in Patienten mit Herzmuskelschwäche werden etwa 1 Mrd. Herzmuskelzellen pro Patient benötigt, um den im Rahmen der Erkrankung erlittenen Verlust an Herzmuskelzellen strukturell und funktionell auszugleichen. Während frühe Arbeiten sich im Wesentlichen auf eine Anwendung von ES-Zellen fokussiert haben, werden heute zunehmend iPS-Zellen als zelluläres Ausgangsmaterial für die Herzmuskelzellherstellung für therapeutische Zwecke verwendet. ES- und iPS-Zellen zeigen hinsichtlich Differenzierungsverhalten in Herzmuskelzellen keine Unterschiede und sind somit prinzipiell gleichermaßen für die Anwendung in der Herzreparatur geeignet. Aufgrund der „einfachen“ Herstellung von iPS-Zellen ohne Zerstörung von Embryonen und vor dem Hintergrund des in Deutschland geltenden Verbots der Herstellung von ES-Zellen bei Begrenzung der Verwendung importierter ES-Zellen im Ausnahmefall zu Forschungszwecken (Stammzellgesetz, StZG)⁵ ist die Fokussierung der PS-Zelltherapeutikaentwicklung in Deutschland auf iPS-Zelltherapeutika weitestgehend alternativlos.

Bereits 2013 haben Menasché und Kollegen im Rahmen der ESCORT-Studie die Anwendung von aus ES-Zellen abgeleiteten Herzmuskelzellvorläufern erprobt,⁶ Herzmuskelzellvorläufer wurden in dieser Studie über die Expression von CD15 (*stage-specific embryonic antigen 1*, SSEA-1) und Isl-1 (*Insulin gene enhancer protein ISL-1*) identifiziert. Nach Implantation unter Immunsuppression wurde diese nach 1 bis 2 Monaten abgesetzt, sodass von einer kompletten Abstoßung der Zellimplantate auszugehen ist. Während diese Art der Anwendung von aus ES-Zellen abgeleiteten Herzmuskelzellvorläufern auch langfristig als sicher beurteilt werden kann, bleiben deren tatsächliches Differenzierungspotenzial nach Implantation in

⁴Der Wnt-Signalweg (Wg für Wingless und *Int-1*-Gen) steuert u. a. die frühe Organentwicklung.

⁵Siehe unter: <https://www.gesetze-im-internet.de/stzg/BJNR227700002.html> [10.07.2023].

⁶Siehe NCT02057900: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02057900> [10.07.2023].

das menschliche Herz sowie die Wirksamkeit (möglicherweise über sog. parakrine Effekte⁷ oder extrazelluläre Vesikel⁸ vermittelt) unklar.

Herzmuskelzellen aus PS-Zellen werden aktuell erstmalig entweder als (1) Einzelzellformulierungen (Zhang et al. 2022 und HECTOR)⁹ und (2) Aggregatkulturen¹⁰ über intramyokardiale (in den Herzmuskel) Injektionen verabreicht oder als (3) Einzelzellschichten¹¹ oder (4) gezüchtete Herzgewebe¹² chirurgisch auf das Herz aufgebracht. Während in der HECTOR-Studie die Anwendung von Herzmuskelzellen aus ES-Zellen geprüft wird, untersuchen alle anderen Studien Herzmuskelzellpräparate aus iPS-Zellen. Obwohl bei der Anwendung von iPS-Zellen auch eine körpereigene (autologe) Anwendung möglich wäre, wird davon (1) aus logistischen Gründen (Herstellungsdauer inklusive Qualitätskontrolle von vermutlich > 1 Jahr pro Patient), (2) vor dem Hintergrund erheblicher Kosten bei patientenspezifischer Anwendung in einem Patientenkollektiv von typischerweise > 1 Mio. pro Jahr und (3) insbesondere auch aufgrund von Sicherheitsbedenken (Mutationen, Entartung) abgesehen. Während eine Anwendung autologer Zellen vermutlich keine Immunsuppression erforderlich machen würde, ist das Überleben körperfremder (allogener) Herzmuskelzellimplantate strikt von der Verabreichung von Immunsuppressiva abhängig. Bei seltenen Erkrankungen wie dem hypoplastischen Linksherzsyndrom (2 bis 3 von 10.000 Neugeborenen) mit in der Folge chirurgischer Herzkreislaufumstellung als Überbrückung bis zu einer Herztransplantation wäre eine autologe Anwendung für die Rekonstruktion der Herzkammern allerdings denkbar. Eine erste klinische Studie zur Anwendung nicht näher spezifizierter autologer Herzzellen aus iPS-Zellen wurde kürzlich gestartet.¹³ Offen bleibt, ob es bei der Anwendung tatsächlich zu einem Einbau mit Muskelwiederaufbau kommt.

Um die Notwendigkeit einer dauerhaften Anwendung von Immunsuppressiva auch bei Anwendungen in größeren Patientenkollektiven (z. B. bei Herzmuskelchwäche) zu umgehen, werden aktuell sog. hypoinmunogene Ansätze erprobt. Durch genetische Modifikation von für die Zellerkennung wichtigen Oberflächenmarkierungen (u. a. HLA, CIITA, CD47, PD-1L) soll es gelingen, die Abstoßung von allogenen Implantaten auch ohne Anwendung von Immunsuppressiva zu verhindern. Trotz vielversprechender Ergebnisse in Tierexperimenten bleibt im Patienten zu prüfen, ob sich über dieses Vorgehen tatsächlich sowohl akute als auch

⁷Parakrine Effekte meinen die Freisetzung von therapeutisch aktiven Faktoren aus implantierten Zellen.

⁸Extrazelluläre Vesikel meinen aus Zellen freigesetzte, mit therapeutisch aktiven Faktoren beladene Vesikel.

⁹Siehe HECTOR-Studie, NCT05068674: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05068674> [10.07.2023].

¹⁰Siehe LAPIS-Studie, NCT04945018: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04945018> [10.07.2023].

¹¹Siehe NCT04696328: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04696328> [10.07.2023].

¹²Siehe BioVAT-HF-DZHK20, NCT04396899: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04396899> [10.07.2023].

¹³Siehe NCT05647213: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05647213> [10.07.2023].

insbesondere chronische Abstoßungen reduzieren oder gar verhindern lassen. Strategien des z. B. im Bereich der Knochenmarks- und Nierentransplantation üblichen HLA-Matching¹⁴ erlauben weder dort noch perspektivisch bei der PS-Zelltherapie einen vollständigen Verzicht auf Immunsuppressiva. Eine Alternative zu der genetischen Modifikation implantierter Herzmuskelzellen ist die Toleranzinduktion durch eine parallele Implantation von aus iPS-Zellen hergestellten regulatorischen T-Zellen.

Obleich die Anwendung von Herzmuskelzellen aus PS-Zellen erstmalig eine realistische Option für den Wiederaufbau der Herzmuskulatur insbesondere in Patienten mit Herzmuskelschwäche darstellt, sind bei der Anwendung allgemeine und spezielle Nebenwirkungen zu beachten. Alle aus PS-Zellen abgeleiteten Zelltherapeutika gehen grundsätzlich mit der Gefahr des unkontrollierten Zellwachstums in Form sog. Teratome oder Teratokarzinome einher. Dieser Nebenwirkung wird durch eine gezielte Differenzierung in nicht mehr teilungsfähige Herzmuskelzellen ohne Kontamination mit teilungsfähigen PS-Zellen Rechnung getragen. Das Auslösen von Herzrhythmusstörungen ist dagegen eine spezifische Nebenwirkung elektrisch aktiver Herzmuskelzellen. Diese treten vermutlich dosisabhängig und vor allem in Abhängigkeit der Verabreichungsform auf. Während eine direkte Injektion von Herzmuskelzellen in die Herzwand zu einer schnellen, aber dabei „chaotischen“ Kopplung der elektrisch aktiven Herzmuskelzellen an Herzmuskelzellen des Empfängers führt und so unerwünschte Erregungen auslösen kann, zeigen sich nach Applikation von präformiertem Herzgewebe keine Herzrhythmusstörungen. Die Anwendung als biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte („tissue engineered products“, TEPs) ist darüber hinaus mit einem deutlich besseren Zellerhalt verbunden. Für den anzunehmenden Fall, dass Herzmuskelzellretention direkt mit dem erreichbaren funktionellen Effekt bei Herzmuskelzellimplantation assoziiert ist, wäre dies ein wichtiger Vorteil bei TEP-Implantation vs. Zellinjektion. Klinische Studien werden zeigen, ob und wenn ja unter welchen Bedingungen eine Remuskularisierung des Herzens durch Herzmuskelzellimplantation zu einem klinisch bedeutsamen Effekt führen kann. Erste Daten hierzu werden gegen Ende 2023 bei Abschluss der Dosis-Findung im Rahmen der BioVAT-HF Studie erwartet.

13.3 Pankreatische β -Zellen aus pluripotenten Stammzellen zur Behandlung von Diabetes

Diabetes mellitus ist eine Stoffwechselerkrankung, von der aktuell weltweit mehr als 537 Mio. Menschen betroffen sind, mit einem Trend zu knapp 800 Mio. im Jahr 2045 (International Diabetes Federation 2021). Typ-1-Diabetes (T1D) wird durch die autoimmune Zerstörung von insulinproduzierenden β -Zellen verursacht, während Typ-2-Diabetes (T2D) durch eine feindliche Stoffwechselumgebung verursacht wird, die zu einer Erschöpfung und Dysfunktion der β -Zellen führt.

¹⁴Beim HLA-Matching werden humane Leukozytenantigene (HLA) mit dem Ziel überprüft, HLA-identische Spenderorgane für die Organempfänger zu identifizieren.

Gegenwärtig behandeln Erstlinienmedikamente die symptomatische Insulinresistenz und den erhöhten Blutzuckerspiegel (Hyperglykämie), verhindern jedoch nicht den fortschreitenden Rückgang der β -Zellmasse und -funktion in der Langerhans'schen Insel.¹⁵ Daher werden dringend kausale Therapien benötigt, die entweder die endogene β -Zellmasse früh im Krankheitsverlauf schützen oder regenerieren oder verlorene β -Zellen ersetzen (Siehler et al. 2021). Die Transplantation von Langerhans'schen Inseln unter Immunsuppression ist eine minimalinvasive Therapie, die zur vollständigen Normalisierung der Blutglukoseregulation und Wiederherstellung der Insulinsekretion bei T1D-Patienten führt (Shapiro et al. 2000). Die Verfügbarkeit von Langerhans'schen Inseln von Organ Spendern, die für die Transplantation genutzt werden können, ist jedoch begrenzt. Daher stellen aus pluripotenten Stammzellen (PSC) gewonnene β -ähnliche Zellen oder künstlich hergestellte inselähnliche Organoiden (siehe Bartfeld, Kap. 12) neue Therapieansätze dar, um den steigenden Anforderungen der Zukunft gerecht zu werden.

Die Entwicklung von Zellersatztherapien erfordert, die Zusammensetzung, Struktur und Funktion der natürlichen β -zellhaltigen Langerhans'schen Inseln zu verstehen und den Entwicklungs-, Differenzierungs- und Reifungsprozess im künstlichen Milieu mit einer Vielzahl von Nährstoffen und Wachstumsfaktoren nachzustellen. Zusätzlich zu den verschiedenen hormonproduzierenden endokrinen Zelltypen werden endogene Inseln von Neuronen innerviert (mit Nervenzellen ausgestattet), sind mit Kapillaren durchsetzt, in die extrazelluläre Matrix eingebettet und von einer Inselkapsel umgeben. Native β -Zellen schalten bei einer Stimulation durch Glukose ihre streng regulierte Insulinsekretionsmaschinerie ein, und die Insulinfreisetzung im Laufe der Zeit weist eine charakteristische Dynamik auf.

Aus menschlichen PSC gewonnene Inselorganoiden oder β -Zellen basieren auf differenzierten induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSC) oder embryonalen Stammzellen (ESC). Für die In-vitro-Differenzierung werden mindestens drei von verschiedenen Arbeitsgruppen entwickelte und veränderte Verfahren genutzt (zusammengefasst in Siehler et al. 2021). Der Prozess umfasst sechs charakteristische Stadien, u. a. endodermale, pankreatische und endokrine Vorläuferzellen, und erzeugt funktionell unreife, von pluripotenten Stammzellen abgeleitete β -ähnliche Zellen (PSC- β -Zellen) sowie von Stammzellen abgeleitete α -ähnliche Zellen (PSC- α -Zellen) mit eingeschränkter sekretorischer Funktion. Darüber hinaus sind in Inselprodukten, die in vitro hergestellt wurden, unerwünschte Zelltypen wie Vorläuferzellen, polyhormonelle Zellen und serotoninproduzierende enterochromaffine Zellen vorhanden.

Daraus ergeben sich die folgenden drei Hauptbedenken gegenüber den aktuellen Verfahren und Produkten: Erstens ist die differenzierte Population heterogen, und das Vorhandensein nicht erwünschter Zellen könnte die Gesamtfunktion des Transplantats beeinträchtigen. Zweitens ist die Reproduzierbarkeit von Protokollen für

¹⁵Langerhans'sche Inseln der Bauchspeicheldrüse sind kleine Anhäufungen von hormonproduzierenden Zellen, die den Blutzuckerspiegel regulieren. Vor allem insulinproduzierende β -Zellen, aber auch Glukagon-produzierende α -Zellen sind in den kleinen Miniorganen zu finden.

verschiedene PSC-Linien variabel. Dies deutet darauf hin, dass es Unterschiede zwischen den Zellen gibt, die nicht berücksichtigt wurden und die den Nutzen der Zellen beeinträchtigen könnten. Drittens rekapitulieren die erzeugten Zellen nur unvollständig den Differenzierungs- und Reifungsstatus von erwachsenen menschlichen β -Zellen, die in der Langerhans'schen Insel zu finden sind.

In einem idealen Zukunftsszenario könnten definierte PSC-Inseln hergestellt und zur Behandlung von Patienten mit labilem T1-Diabetes und T1-Diabetes im Spätstadium verwendet werden. Dass die Transplantation von aus PSC gewonnenen inselähnlichen Organoiden therapeutische Wirksamkeit zeigt, wurde vor Kurzem von Vertex an einer kleinen Anzahl von T1D-Patienten nachgewiesen.¹⁶

Allerdings müssen in der Zukunft noch einige Hürden überwunden werden, wie die Notwendigkeit, die Protokolle zur endokrinen Differenzierung zu verbessern und zu bestimmen, welche Zelltypen in welchen Verhältnissen eine sichere und funktionelle PSC-Insel bilden können. Ein besseres Verständnis der Entwicklung menschlicher Inseln wird die Laborherstellung physiologisch relevanter PSC-Inseln erleichtern. Darüber hinaus müssen Protokolle für die Herstellung von PSC-Inseln entworfen werden. Ebenfalls wichtig sind Strategien zur Maximierung der Ausbeute durch Vermehrung von Vorläuferzellen und zur Kryokonservierung von Zellen in Zellbanken. Darüber hinaus müssen zuverlässige und gültige Potenztests und Definitionen von Schwellenwerten für transplantierbare PSC-Inseln etabliert werden. Die Verringerung der Immunogenität von Transplantaten wird auch ihre Wirksamkeit verbessern. Wichtige Strategien könnten z. B. die gentechnische Veränderung immunevasiver PSC oder die Entwicklung und Optimierung einer Schutzumgebung für das Transplantat sein. Schließlich wird die verbesserte Produktion von funktionellen und reifen PSC-Inseln in vitro die Modellierung von T1D und T2D ermöglichen. Solche Modelle könnten unser Verständnis der Pathomechanismen dieser Krankheiten verbessern und zur Durchführung von Wirkstoffscreenings verwendet werden, um neue molekulare Ziele für eine verbesserte Therapie zu identifizieren und zu validieren.

13.4 Blutzellen aus pluripotenten Stammzellen

Physiologisch entstammen die drei Zellarten des Blutes (Lymphozyten, Erythrozyten und Thrombozyten) Blutstammzellen, die im Knochenmark angesiedelt sind und über diverse Stufen in die verschiedenen Linien ausreifen. Die Transfusion von Erythrozyten zur Behandlung einer Blutarmut (Anämie) stellt mit über 3 Mio. transfundierten Erythrozytenkonzentraten die am besten etablierte und häufigste Art einer Zelltherapie dar, gefolgt von Thrombozytenkonzentraten, die für die Aufrechterhaltung der Gerinnung benötigt werden. Während diese beiden Zelltypen des Blutes für die meisten Patienten sehr effizient und einfach von gesunden Spendern gewonnen werden können, gibt es eine kleine Gruppe von Patienten, die bis heute

¹⁶Siehe unter: <https://diatribe.org/vertex-releases-new-data-potential-cure-for-type-1-diabetes> [13.07.2023].

nicht mit kompatiblen Blutkomponenten versorgt werden können. Im Fall von Erythrozytenkonzentraten können familiär auftretende seltene Blutgruppenkonstellationen dazu führen, dass bei chronischem Transfusionsbedarf (z. B. bei Sichelzellanämie) gegen die meisten in unserem Kulturkreis auftretenden Blutgruppenantigene bereits Antikörper gebildet wurden. Ein Beispiel ist die sog. Rh0-Variante, bei der Antikörper gegen Rhesus C, c, E, e und D gebildet werden. Patienten mit dieser Blutgruppe können somit weder mit Rhesus-positivem noch Rhesus-negativem Blut versorgt werden, was in Einzelfällen eine lebensbedrohliche Situation darstellen kann. Während Erythrozyten 44 Blutgruppensysteme mit über 400 Allelen tragen, sind auf Blutplättchen, den Thrombozyten, lediglich die ABH-Antigene der ABO-Blutgruppen exprimiert. Allerdings tragen Thrombozyten auch menschliche Leukozytenantigene (HLA) Klasse I und menschliche Plättchenantigene (HPA) I-V, die bei wiederholter Gabe zu Immunisierungen der Empfänger führen und weitere Transfusionen schwierig gestalten können.

Vor diesem Hintergrund besteht ein großer medizinischer Bedarf an Blutkomponenten, die sich auch zur Transfusion multipel vorimmunisierter Patienten eignen.¹⁷ IPS-Zellen bieten hier eine interessante Alternative als Quelle für derartige Blutpräparate zur Versorgung einer kleinen Gruppe von Patienten, die mit den gängigen Blutpräparaten aus Blutspenden nicht versorgt werden können (Feng et al. 2014; Petazzi et al. 2022). IPS-Zellen können in Blutstammzellen differenziert werden, was es ermöglicht, in einem zweiten Schritt die jeweils benötigten Blutzellen (Erythrozyten, Thrombozyten) daraus zu generieren. Beide Zellarten erscheinen auch gerade deshalb als eine besonders geeignete Form einer „Zelltherapie“ mit aus iPS-Zellen generierten Arzneimitteln, weil weder Erythrozyten noch Thrombozyten in ihrer ausgereiften Form einen Zellkern enthalten und somit nicht vermehrungsfähig sind. Risiken, die mit einer Zelltherapie aus pluripotenten Stammzellen aufgrund deren Plastizität verbunden sind, wie z. B. ein tumorigenes Risiko, sind bei der Generierung von Erythrozyten oder Thrombozyten aus iPS-Zellen somit nicht existent, sofern es gelingt, Präparate herzustellen, die lediglich ausgereifte und kernlose Zellen enthalten. Ein weiterer Vorteil ist, dass man die Kompatibilität in Bezug auf z. B. Blutgruppen dadurch erreichen kann, dass man iPS-Zellen von Familien generiert, in denen eine besonders seltene und schwierig zu versorgende Blutgruppenkonstellation gegeben ist. Die aus iPS-Zellen generierten Erythrozyten würden dann automatisch die passende Blutgruppenkonstellation für eben jene Gruppe von Patienten aufweisen. Durch CRISPR/Cas9-Ansätze lassen sich häufige Blutgruppen und Antigenmerkmale zudem aus den Blutstammzellen, die aus iPS-Zellen gewonnen wurden, entfernen, wodurch sich universell einsetzbare Blutkomponenten generieren lassen.

Obwohl die Züchtung und der Einsatz von Blutkomponenten aus iPS-Zellen sehr vielversprechend sind, hinkt die klinische Entwicklung den Erwartungen derzeit noch hinterher. Hintergrund ist, dass die Verfahren zur Herstellung noch mit vielen technischen Schwierigkeiten und Herausforderungen verbunden sind. So wurden bislang noch keine klinischen Studien mit aus iPS-Zellen abgeleiteten roten Blutzellen („red

¹⁷Trotz der bei diesen Patienten potenziell bereits bestehenden Immunantwort gegen mehrere Blutgruppenantigene und HLA/HPA-Antigene.

blood cell“, RBC) durchgeführt, da die Gewinnung von Zellen, die adulten RBC ähneln, problembehaftet ist. Während die In-vitro-Differenzierung auch unter der Nutzung verschiedener Optimierungsansätze von geringem Expansions- und E nukleationspotenzial sowie einem ausbleibenden Wechsel des Hämoglobintyps geprägt ist, konnte in Mausexperimenten gezeigt werden, dass in vivo eine vollständige terminale Ausreifung der iPS-Zellen möglich ist (Kobari et al. 2012; Sugimura et al. 2017). Diese Ergebnisse stellen das außerordentliche Potenzial der iPS-Zellen als Quelle für RBC heraus. Sie zeigen aber auch auf, dass das Erlangen eines tiefgreifenden Verständnisses der In-vivo-Prozesse der terminalen Erythropoese und der Abläufe in der Knochenmarknische für eine effiziente In-vitro-Produktion adulter RBC aus iPS-Zellen notwendig ist, bevor eine klinische Anwendung in Betracht gezogen werden kann.

Im Gegensatz dazu konnte bereits eine erste klinische Studie zum Einsatz autologer Thrombozyten aus iPS-Zellen durchgeführt werden (Sugimoto et al. 2022). Insbesondere die kurze Haltbarkeit von Thrombozytenpräparaten und die Notwendigkeit der HLA- und HPA-Kompatibilität bei Patienten mit entsprechenden Alloantikörpern machen alternative Thrombozytenquellen wie iPS-Zellen besonders attraktiv (Chen et al. 2023). Obwohl die GMP-konforme Gewinnung einer ausreichenden Menge von Thrombozyten für eine Transfusion aus Megakaryozyten von iPS-Zellen bereits möglich ist, gilt eine Hochskalierung der Ausbeute als dringend notwendig für eine kosteneffiziente Herstellung (Hansen et al. 2019). Forscher aus Hannover verfolgen dafür den Ansatz, Microcarrier-basierte Rührbioreaktoren für Suspensionskulturen einzusetzen (Eicke et al. 2018).

Ein Beispiel für ein erfolgreiches Upscaling stellen aus iPS-Zellen abgeleitete Makrophagen dar. Etablierte Protokolle ermöglichen die kontinuierliche Massenproduktion funktioneller und reiner iPS-Makrophagen in einer skalierbaren Suspensionskultur (Ackermann et al. 2022).

Die jüngsten Entwicklungen in der Zelltherapieforschung können wegweisend für den zukünftigen Einsatz alternativer Blutprodukte aus pluripotenten Stammzellen sein. Trotz vielversprechender Ergebnisse gilt es, die biologischen Prozesse der Hämatopoese sowie die technische Prozessoptimierung der In-vitro-Produktion hämatopoetischer Zellen voranzutreiben, um Blutprodukte aus iPS-Zellen für eine breite Anwendung zu realisieren.

13.5 Retinales Pigmentepithel aus pluripotenten Stammzellen zur Behandlung retinaler Degenerationen

Einer der wichtigsten Sinne des Menschen ist die Aufnahme visueller Eindrücke durch die Augen. Hierbei werden Lichtsignale durch spezielle lichtsensitive Zellen, sog. Photorezeptoren, in biologische Signale umgewandelt und nach erster Prozessierung innerhalb der Netzhaut zur weiteren Verarbeitung an das Gehirn geleitet. Die Funktion der Photorezeptoren hängt dabei von der Unterstützung des ihnen direkt anliegenden retinalen Pigmentepithels (RPE) ab. Das RPE ist eine Einzelzellschicht, die zum einen eine Barriere zum Blutgefäßsystem bildet und zum anderen

für den Transport und das Recyceln verschiedener Nährstoffe, Moleküle und Abfallstoffe zu bzw. weg von der Netzhaut/Photorezeptoren von wichtiger Bedeutung ist.

Es kommt nun bei verschiedenen Erblindungskrankheiten zu Dysfunktionen und Absterben des RPEs, wodurch die Lichtsensitivität der Photorezeptoren verloren geht und es im weiteren Verlauf auch zu einem Absterben der Photorezeptoren kommt. Der Verlust von RPE und Photorezeptoren wird z. B. bei der altersbedingten Makulardegeneration (AMD) beobachtet, dem häufigsten Grund für visuelle Einschränkungen und Erblindungen in industrialisierten Gesellschaften. Der menschliche Körper kann verlorene Photorezeptoren und RPE-Zellen nicht wieder aufbauen bzw. regenerieren, was eine dauerhafte Einschränkung der Sehfähigkeit bis hin zur Blindheit zur Folge hat. Derzeit stehen keine in der Klinik etablierten Behandlungsmethoden zur Verfügung, um geschädigtes oder verlorenes RPE zu ersetzen.

Nach der erfolgreichen Generierung von menschlichen ES-Zellen (siehe Abschn. 13.1) zeigte sich, dass auch RPE-Zellen aus diesen in der Zellkultur differenziert werden können. Diverse Protokolle wurden – ab 2007 dann auch mit iPSC-Zellen – zur effizienten Herstellung von RPE-Kulturen aus pluripotenten Stammzellen entwickelt (Jin et al. 2019; Van Gelder et al. 2022). Die generierten RPE-Zellen bildeten dabei polarisierte Einzelzellschichten, exprimierten charakteristische Marker und zeigten RPE-spezifische Funktionen. Darüber hinaus zeigten erste Transplantationen in Tiermodellen mit dysfunktionalen oder zerstörtem RPE, dass die Spenderzellen in Empfängeräugen überleben und sogar teilweise eine polarisierte Einzelzellschicht zwischen dem Blutgefäßsystem (Choroid) und den Photorezeptoren bildeten, was zu partiellen Funktionsverbesserungen der Netzhaut führte (Jin et al. 2019; Van Gelder et al. 2022).

Diese erfolgreichen vorklinischen Experimente führten dann vor ca. 10 Jahren zu den ersten klinischen Studien. Während die ersten Transplantationen mit ES-zellabgeleiteten RPE-Zellsuspensionen durchgeführt wurden, folgte bald darauf auch die erste Transplantation mit RPE, die aus iPSC-Zellen generiert wurden, als Einzelzellschicht (Van Gelder et al. 2022). In diesen ersten klinischen Anwendungen wurden AMD- bzw. Stargardt-Patienten¹⁸ behandelt, mit dem vorrangigen Ziel, das Überleben und die Sicherheit solcher Transplante zu untersuchen. Tatsächlich konnten die Spenderzellen noch mehrere Jahre nach der Injektion in die Empfängeräugen nachgewiesen werden. Trotz des späten Krankheitsstadiums der Patienten, bei denen schon der Großteil der Photorezeptoren verloren war, konnten erste Hinweise auf eine begrenzte Verbesserung der Sehfähigkeit nachgewiesen werden (Jin et al. 2019; Van Gelder et al. 2022). Daraufaufgehend wurden über die letzten Jahre

¹⁸Morbus Stargardt ist eine seltene erbliche Erkrankung, bei der es zu visuellen Einschränkungen bis hin zur Erblindung bereits im jugendlichen Alter kommt. Neben der Degeneration von Photorezeptoren in der Makula, dem Bereich der Netzhaut des „schärfsten“ Sehens, kommt es in einer Subform auch zur Schädigung des RPE.

bereits 10 klinische Studien zur RPE-Transplantation gestartet (Temple 2023), wobei manche Arbeitsgruppen die RPE-Zellen auf Gerüsten (Scaffolds) aus unterschiedlichen Materialien vor der Transplantation wachsen lassen und diese ‚Patches‘ dann als Ganzes unter die Netzhaut schieben. Auch wenn hierbei die Operation deutlich komplexer ist, als eine Zellsuspension ins Auge zu injizieren, bleibt die bereits vorher in der Zellkultur angelegte Einzelzellschicht erhalten und muss nicht von den Zellen nach Transplantation neu gebildet werden. Erste veröffentlichte Daten zeigen, dass hier die Sehfähigkeit von behandelten Patienten stabilisiert und teilweise auch verbessert werden kann (Van Gelder et al. 2022; siehe auch Bartfeld, Kap. 12).

Bei Organ- und Zelltransplantationen müssen insbesondere Immun- und Abstoßungsreaktionen bedacht werden, die vor allem bei allogenen Zellen auftreten. Auch wenn das Auge als teilweise immunprivilegiert gilt (d. h., dass Abstoßungsreaktionen deutlich vermindert sind), konnte in Experimenten mit Affen gezeigt werden, dass immunologisch ‚passende‘ RPE-Transplantate ein signifikant besseres Überleben zeigten als ‚unpassende‘ (Sugita et al. 2021). Mit der iPS-Zelltechnologie ist es grundsätzlich möglich, aus körpereigenen Zellen des Patienten erst iPS-Zellen zu reprogrammieren und diese dann zur RPE-Produktion zu nutzen. Neben ersten Transplantationen in Japan (erste iPS-RPE Transplantation, siehe oben) wurden solche autologen Transplantationen kürzlich auch am National Institute of Health, USA, durchgeführt (Temple 2023). Zu den Nachteilen von autologen Transplantationen gehören die sehr langwierige und aufwendige Produktion von patienteneigenen iPS- und RPE-Zellen und die damit verbundenen sehr hohen Kosten. Alternativ dazu werden derzeit auch Strategien verfolgt, um durch die Produktion von sog. ‚Superspender‘-iPS-Zellen, die durch die Auswahl spezifischer Zellspender (homozygot für HLA) oder durch gentechnische Veränderungen generiert werden, Zellbanken aufzubauen, in denen eine begrenzte Anzahl von Zelllinien ausreichen, um große Teile einer Bevölkerung mit immunologisch verträglichen RPE-Zellen oder auch anderen transplantierbaren Zelltypen zu versorgen.

Aufgrund der separierten Lage vom Rest des Körpers, die vergleichsweise einfache operative Zugänglichkeit sowie Möglichkeiten einer direkten visuell-diagnostischen Verfolgung von Transplantaten und Veränderungen der Netzhaut durch die transparente Hornhaut (Kornea) nimmt das Auge für die Entwicklung von Zelltherapien basierend auf pluripotenten Stammzellen eine Vorreiterstellung ein. Auch wenn eine RPE-Transplantationstherapie noch nicht den ganzen Weg bis zur zugelassenen klinischen Anwendung durchlaufen hat, so kann dies in den nächsten Jahren erwartet werden. Darüber hinaus haben die gemachten Erfahrungen der vor- und auch ersten klinischen Studien bereits wichtige und vielfältige Einblicke in die Nutzung von Zellprodukten aus pluripotenten Stammzellen erbracht, die derzeit auch für andere Zellersatztherapieansätze in der Netzhaut, wie z. B. für den Ersatz von Photorezeptoren oder RPE-Photorezeptor-Kombinationen, von enormer Wichtigkeit sind und deren weitere Entwicklung maßgeblich beeinflussen.

13.6 Dopaminerge Neuronen aus pluripotenten Stammzellen zur Behandlung von Parkinson

Die Parkinsonkrankheit („Parkinson’s Disease“, PD) betrifft weltweit etwa 10 Millionen¹⁹ von Menschen. Die Krankheit kann bei Menschen jeden Alters vorkommen, tritt aber i. d. R. um das Alter von 70 Jahren auf. In den meisten Fällen sind die Ursachen der Krankheit unbekannt (idiopathischer Morbus Parkinson). Bei jüngeren Patienten ist jedoch die Wahrscheinlichkeit größer, dass der Krankheit seltenere genetische Formen zugrunde liegen. Eines der Hauptprobleme bei PD besteht darin, dass in bestimmten Teilen des Gehirns nicht genügend von dem chemischen Stoff (Neurotransmitter) Dopamin produziert wird. Dieser Stoff wird von dopaminergen Zellen in einem Bereich des Gehirns, der Substantia nigra produziert. Dopaminerge Neuronen sterben bei Patienten mit PD langsam ab. Die Substantia nigra ist Teil der Schaltkreise im Gehirn, die an der Regulierung von Bewegung, Stimmung und Entscheidungsfindung beteiligt sind. Wenn etwa die Hälfte dieser dopaminergen Zellen verloren gegangen sind und somit weniger Dopamin im Schaltkreis vorhanden ist, treten bei den Patienten die motorischen Symptome der PD auf. Die charakteristischen motorischen Merkmale von Morbus Parkinson sind Langsamkeit der Bewegungen, Zittern, Steifheit, eine leise Stimme und ein gebückter, schlurfender Gang (Guo et al. 2021).

Wenn die Symptome beginnen, ist i. d. R. eine Körperseite stärker betroffen als die andere. Medikamente wie Levodopa, Dopamin-Agonisten, Monoaminoxidase-Hemmer und andere neuroprotektive Wirkstoffe sind in den frühen Stadien von PD sehr wirksam. Mit der Zeit treten bei diesen Medikamenten jedoch Nebenwirkungen auf. Wenn die Symptome fortschreiten, sind i. d. R. Behandlungen erforderlich, die intensivere Eingriffe erfordern, einschließlich der Implantation eines Geräts zur Tiefenhirnstimulation. Derzeit gibt es keine Therapie, die zu einer Heilung von PD führt. Daher wird weltweit intensiv erforscht, wie regenerative Medizin und Stammzellforschung zur Behandlung oder Vorbeugung der Krankheit eingesetzt werden könnten (Guo et al. 2021; Parmar et al. 2019).

Ärzte und Wissenschaftler sind aufgrund der Ergebnisse von Transplantationsstudien aus den 1980er- und 90er-Jahren davon überzeugt, dass die Zellersatztherapie funktionieren kann. Schwedische, amerikanische und kanadische Forscher transplantierten sich entwickelnde dopaminproduzierende Neuronen aus menschlichen Föten in Tiere und menschliche Patienten mit PD. Diese Therapien führten in einigen Fällen zu großen Verbesserungen, in anderen jedoch nur zu bescheidenen Veränderungen (Parmar et al. 2019). Diese frühen Studien führten zu größeren Studien, in denen leider bei einigen Patienten, die solche Transplantate erhielten, Nebenwirkungen in Form von unwillkürlichen Bewegungen beobachtet wurden, die durch das Transplantat ausgelöst wurden, ähnlich wie bei vielen Patienten, die eine Langzeitbehandlung mit L-Dopa erhielten. Die Ursache hierfür ist noch ungeklärt, könnte aber mit der Transplantation von unspezifischen Zellen zusammenhängen, die kein Dopamin pro-

¹⁹Siehe unter: <https://dpv-bw.de/schaetzung-der-weltweiten-population-der-parkinson-krankheit-pd-fuer-2020/> [26.10.2023].

duzieren, allerdings in den Transplantaten des menschlichen fötalen Mittelhirns vorhanden sind. Dennoch hat die Transplantation junger Hirnzellen aus menschlichen Föten in Menschen mit Parkinson in früheren klinischen Studien vielversprechende Ergebnisse gezeigt. Die TRANSEURO-Studie, die seit 2013 durch das FP7-Rahmenprogramm der Europäischen Kommission finanziert wird (Barker und TRANSEURO-Konsortium 2019),²⁰ untersucht diese Behandlungsmethode erneut, um Nebenwirkungen zu minimieren und die Wirksamkeit zu messen. Allerdings sind diese Therapien ethisch sehr umstritten, da die meisten Transplantate aus Spenden abgetriebener Föten stammten.

Für sicherere Anwendungen und ein standardisiertes Protokoll sowie aus ethischen Gründen haben sich die Forscher anderen Zellquellen zugewandt. Durchbrüche auf dem Gebiet der Stammzellen haben die Forscher ermutigt, menschliche pluripotente Stammzellen, sowohl ES-Zellen als auch iPS-Zellen, als skalierbare und rückverfolgbare Quelle zu verwenden. Ermutigt durch die sich wandelnden und fortschreitenden Technologien der Zellgewinnung und -differenzierung haben Forscher Stammzellen in klinischen Versuchen zur Behandlung von PD getestet (Kim et al. 2021). Angesichts hinreichend überzeugender Daten aus präklinischen Studien, insbesondere zur Differenzierung dopaminergener Neuronen oder Vorläuferzellen aus PS-Zellen, überlegen internationale Experten derzeit, wie die Verwendung standardisiert und die Kosteneffizienz verbessert werden kann (Kim et al. 2021). Pluripotente Stammzellen sind aufgrund ihrer vielfältigen Differenzierungsfähigkeiten ein akzeptabler Ersatz für geschädigte, nicht erneuerbare Neuronen, insbesondere für die Behandlung von Morbus Parkinson.

Derzeit laufen weltweit zahlreiche präklinische Studien zur Anwendung von Neuronen aus PS-Zellen in verschiedenen Tiermodellen (Kim et al. 2021). Ein Team in Schweden unter der Leitung der Forscherin Malin Parmar implantierte dopaminerge Neuronen aus ES-Zellen in das Striatum und die Substantia nigra von Ratten, deren dopaminerge Zellen zuvor chemisch zerstört worden waren, und erzielte in diesen Studien positive Ergebnisse (Kirkeby et al. 2017). Zu einer ähnlichen Studie, in der ebenfalls ES-Zellen verwendet wurden, berichtete Lorenz Studer auch über anhaltende positive Auswirkungen dieser Zellersatztherapie bei Nagetieren (Mäusen und Ratten) und Affen (Steinbeck 2015). ES-Zellen wurden auch in anderen präklinischen Studien in den Vereinigten Staaten und Australien in Nagetiere transplantiert (Chen et al. 2016; Gantner et al. 2020). Darüber hinaus berichtete die australische Forschergruppe, dass ein neuronaler Wachstumsfaktor GDNF („glial cell-derived neurotrophic factor“) die Transplantation der Zellen deutlich verbessert (Gantner et al. 2020). In Japan hat das Forschungsteam von Jun Takahashi Neuronen aus iPS-Zellen sowohl in Ratten als auch in Affen transplantiert, ebenfalls mit eindeutig positiven Ergebnissen (Kikuchi et al. 2017). Japan war aufgrund seines starken Fokus auf iPS-Zellen, die auf der Reprogrammierungstechnologie basieren, die in Japan entwickelt wurde, ein früher Anwender von Therapien mit diesem Zelltyp. Einige andere Studien haben ebenfalls erfolgreich dopaminerge Neuronen aus iPS-Zellen in der präklinischen Umgebung verwendet, wie

²⁰ Siehe NCT01898390: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT01898390> [10.07.2023].

im Labor von Ole Isacson an der Harvard University (Hallett et al. 2015) in einem Affenmodell und in einem Rattenmodell im Team von Kwan-Soo Kim, ebenfalls an der Harvard University (Song et al. 2020). In den meisten dieser Studien wurden die differenzierten Zellen in das Striatum der Tiere transplantiert. Nur in einer Studie aus Schweden wurde auch die Transplantation in die Substantia nigra getestet, ohne dass dabei signifikante Vorteile beschrieben wurden (Parmar et al. 2019).

Aufgrund der vielversprechenden präklinischen Studien in verschiedenen Tiermodellen laufen derzeit weltweit mehrere klinische Versuche zur Transplantation dopaminergener Neuronen aus pluripotenten Stammzellen. Aus Japan wurde berichtet, dass 2018 in der Studie „Kyoto trial to evaluate the safety and efficacy of iPSC-derived dopaminergic progenitors in the treatment of Parkinson’s disease“ der erste PD-Patient transplantiert wurde (Takahashi 2020).²¹ Die Ergebnisse dieser Studie wurden jedoch noch nicht veröffentlicht, u. a. weil die Studie aufgrund der Entdeckung genetischer Mutationen in den verwendeten iPSC-Zellen vorübergehend unterbrochen wurde. Weitere klinische Studien wurden aus Australien,²² aus China²³ und aus Schweden²⁴ gemeldet. Seit 2021 hat auch BlueRock Therapeutics, eine Tochterfirma des deutschen Bayer-Konzerns, eine klinische Studie zu PD mit 12 Teilnehmern in den USA und Kanada begonnen.²⁵ Die Ergebnisse der laufenden klinischen Studien werden von der medizinischen Gemeinschaft, aber auch von den betroffenen Patienten mit großem Interesse erwartet. Es ist zu hoffen, dass die positiven Ergebnisse aus den Tiermodellen auch im menschlichen System erzielt werden können.

13.7 Herstellung GMP-konformer Zelltypen aus pluripotenten Stammzellen

Der Schlüssel für eine klinische Anwendung von Zellprodukten ist die Überführung von im Labor etablierten Prozessen in einen gemäß Arzneimittelgesetz regulierten Herstellungsprozess. Dabei ist die Herstellung analog zu den Vorgaben der guten Herstellungspraxis und der anerkannten pharmazeutischen Regeln ein wichtiger Punkt. Während dafür auf der einen Seite die räumlichen Vorgaben für eine aseptische Arzneimittelproduktion eingehalten werden müssen, sind es darüber hinaus besondere Anforderungen an die jeweiligen Ausgangsmaterialien („raw and starting materials“) und Hilfsstoffe („excipients“), die berücksichtigt werden müssen. Zusätzlich sind spezielle Qualitätskontrollen und ein detailliertes Risikomanagement von zentraler Bedeutung. Qualitätsaspekte inklusive Risikoanalyse („risk-based approach“) müssen in dem Dossier zum Prüfpräparat (Investigator Medicinal Product Dossier, IMPD) für eine Beurteilung durch das Paul-Ehrlich-Institut als verantwort-

²¹ Siehe UMIN000033564, Japanese Clinical Trials Registry: https://center6.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr_e/ctr_view.cgi?recptno=R000038278 [14.06.2023].

²² Siehe NCT02452723: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT02452723> [10.07.2023].

²³ Siehe NCT03119636: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT03119636> [10.07.2023].

²⁴ Siehe NCT05635409: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT05635409> [10.07.2023].

²⁵ Siehe NCT04802733: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT04802733> [10.07.2023].

liche Bundesoberbehörde für die Genehmigung von Zelltherapeutika als „Advanced Therapy Medicinal Products“ (ATMPs) und klinische Prüfpräparate berücksichtigt werden (siehe Scherer/Berger, Kap. 9). ATMPs umfassen Gentherapeutika, somatische Zelltherapeutika sowie biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte. Die Bewertung von GMP-Prozessen liegt dagegen in der Hoheit der zuständigen Arzneimittelüberwachung der Bundesländer (insbesondere den Regierungspräsidien und Gewerbeaufsichtsämtern) und erfolgt i. d. R. unter Beratung durch Mitarbeiter des Paul-Ehrlich-Instituts.

Diese Unterscheidung ist wichtig, da ein GMP-Prozess allein keine Garantie für eine Genehmigung als Prüfpräparat im Rahmen klinischer Prüfungen ist. Qualität und Risikobeurteilung von Ausgangsmaterialien, Hilfsstoffen und Prozessschritten müssen den Vorgaben des Arzneimittelgesetzes entsprechen. Bei der Anwendung von Zelltherapeutika aus PS-Zellen sind darüber hinaus in Deutschland auch die rechtlichen Grundlagen für die Verwendung des zellulären Ausgangsmaterials sowie dessen Überführbarkeit in die klinische Regelversorgung in Deutschland zu berücksichtigen (siehe Müller-Terpitz, Kap. 17). Während dies für iPS-Zellen bei vorliegender Einverständniserklärung der Spender bzw. deren gesetzlichen Vertretern möglich ist, erlaubt das Deutsche Stammzellgesetz (StZG) lediglich den Import und die Verwendung von ES-Zellen für Forschungszwecke in gut begründeten Ausnahmefällen nach Darlegung der Hochrangigkeit, der hinreichenden Vorklärung und der Alternativlosigkeit. Eine Anwendung in der klinischen Regelversorgung von in Deutschland hergestellten ES-Zell-Produkten ist gemäß aktueller Gesetzgebung in Deutschland ausgeschlossen. In Europa ist die GMP-Herstellung für die klinische Anwendung eines aus iPS-Zellen hergestellten Zellprodukts (als sog. Herzpflaster; Tiburcy et al. 2017) erstmalig in 2020 an der Universitätsmedizin Göttingen zugelassen worden und wird, gefördert durch das Deutsche Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK) und die Repairon GmbH,²⁶ seit 2021 in Patienten mit schwerer Herzmuskelschwäche erprobt (Kim et al. 2022).

Eine frühe Kontaktaufnahme und enge Abstimmung mit den zuständigen Arzneimittelüberwachungsbehörden als auch mit dem PEI (Bundesoberbehörde) im Rahmen von wissenschaftlichen Beratungen („Scientific Advice Meetings“, SAM) ist dringend zu empfehlen, um die Translation innovativer Arzneimittel aus dem Labor in die klinische Anwendung gut informiert unter Berücksichtigung der Vorgaben des Arzneimittelgesetzes zu erreichen.

13.8 Ausblick

Dass Zellprodukte aus PS-Zellen den Sprung in die klinische Regelversorgung schaffen werden, scheint vor dem Hintergrund der vielversprechenden präklinischen und zunehmend auch klinischen Daten und Erfahrungen nur noch eine Frage der Zeit zu sein. Der Schlüssel für die Regelversorgung wird eine kapazitätsgerechte

²⁶Der Autor Wolfram-Hubertus Zimmermann gibt einen Interessenkonflikt an, da er Gründer, Anteilseigner und unentgeltlicher Berater der Repairon GmbH ist.

und zugleich für die Kostenträger und nicht zuletzt die Steuerzahler finanzierbare Herstellung sein. Der Auf- und Ausbau von Translationszentren mit erfahrener Personal und Infrastruktur für die Prüfpräparatherstellung unter Berücksichtigung der Vorgaben der zuständigen regulatorischen Behörden wird dezentral an inhaltlich ausgewiesenen Universitätskliniken erfolgen müssen, um einerseits wissenschaftsgetrieben und andererseits patientenfokussiert Innovationen sicher, wirksam und zeitnah zunächst in die erste klinische Prüfung und dann i. d. R. in Partnerschaft mit privaten Partnern in die Regelversorgung bringen zu können. Die PS-Zelltherapie wird dabei auch perspektivisch eher regional unter Berücksichtigung der Kompetenzen und Kapazitäten, aber auch der jeweiligen Erstattungszenarien umzusetzen sein.

Literatur

- Ackermann M et al (2022) Continuous human iPSC-macrophage mass production by suspension culture in stirred tank bioreactors. *Nat Protoc* 17:513–539
- Barker R, TRANSEURO consortium (2019) Designing stem-cell-based dopamine cell replacement trials for Parkinson's disease. *Nat Med* 25:1045–1053
- Buganim Y et al (2013) Mechanisms and models of somatic cell reprogramming. *Nat Rev Genet* 14:427–439
- Burridge PW et al (2012) Production of de novo cardiomyocytes: human pluripotent stem cell differentiation and direct reprogramming. *Cell Stem Cell* 10:16–28
- Chen SJ et al (2023) Ex vivo manufacturing of platelets: beyond the first-in-human clinical trial using autologous iPSC-platelets. *Int J Hematol* 117:349–355
- Chen Y et al (2016) Chemical control of grafted human PSC-Derived neurons in a mouse model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell* 18:817–826
- Eicke D et al (2018) Large-scale production of megakaryocytes in microcarrier-supported stirred suspension bioreactors. *Sci Rep* 8:10146
- Feng Q et al (2014) Scalable generation of universal platelets from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep* 3:817–831
- Gantner CW et al (2020) Viral delivery of GDNF promotes functional integration of human stem cell grafts in Parkinson's disease. *Cell Stem Cell* 26:511–526
- Guo X et al (2021) Current developments in cell replacement therapy for Parkinson's disease. *Neuroscience* 463:370–382
- Hallett PJ et al (2015) Successful function of autologous iPSC-derived dopamine neurons following transplantation in a non-human primate model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell* 16:269–274
- Hansen M et al (2019) Human-induced pluripotent stem cell-derived blood products: state of the art and future directions. *FEBS Lett* 593:3288–3303
- International Diabetes Federation (2021) IDF diabetes Atlas, Tenth Edition. International Diabetes Federation. Unter: https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf. Zugegriffen am 05.06.2023
- Jin ZB et al (2019) Stemming retinal regeneration with pluripotent stem cells. *Prog Retin Eye Res* 69:38–56
- Kehat I et al (2001) Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 108:407–414
- Kikuchi T et al (2017) Human iPSC cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. *Nature* 548:592–596
- Kim JY et al (2022) Review of the current trends in clinical trials involving induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Rev Rep* 18(1):142–154

- Kim TW et al (2021) Pluripotent stem cell therapies for Parkinson disease: present challenges and future opportunities. *Front Cell Dev Biol* 8:729
- Kirkeby A et al (2017) Predictive markers guide differentiation to improve graft outcome in clinical translation of hESC-based therapy for Parkinson's disease. *Cell Stem Cell* 20:135–148
- Kobari L et al (2012) Human induced pluripotent stem cells can reach complete terminal maturation: in vivo and in vitro evidence in the erythropoietic differentiation model. *Haematologica* 97:1795–1803
- Mandai M et al (2017) Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration. *N Engl J Med* 376(11):1038–1046
- Menasché P et al (2018) Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitors for severe ischemic left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 71(4):429–438
- Parmar M et al (2019) Cell-based therapy for Parkinson's disease: a journey through decades toward the light side of the force. *Eur J Neurosci* 49:463–471
- Petazzi P et al (2022) ABO gene editing for the conversion of blood type A to universal type O in RH_{null} donor-derived human-induced pluripotent stem cells. *Clin Transl Med* 12:e1063
- Riegler J et al (2015) Human engineered heart muscles engraft and survive long term in a rodent myocardial infarction model. *Circ Res* 117:720–730
- Shapiro AM et al (2000) Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 343:230–238
- Siehl J et al (2021) Engineering islets from stem cells for advanced therapies of diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 20:920–940
- Song B et al (2020) Human autologous iPSC-derived dopaminergic progenitors restore motor function in Parkinson's disease models. *J Clin Invest* 130:904–920
- Spector JM et al (2018) Fundamental science behind today's important medicines. *Sci Transl Med* 10(438):eaaq1787
- Steinbeck JA (2015) Optogenetics enables functional analysis of human embryonic stem cell-derived grafts in a Parkinson's disease model. *Nat Biotechnol* 33:204–209
- Sugimoto N et al (2022) iPLAT1: the first-in-human clinical trial of iPSC-derived platelets as a phase I autologous transfusion study. *Blood* 140:2398–2402
- Sugimura R et al (2017) Haematopoietic stem and progenitor cells from human pluripotent stem cells. *Nature* 545:432–438
- Sugita S et al (2021) Immunological aspects of RPE cell transplantation. *Prog Retin Eye Res* 84:100950
- Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126(4):663–676
- Takahashi K et al (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131(5):861–872
- Takahashi J (2020) iPSC cell-based therapy for Parkinson's disease: A Kyoto trial. *Regen. Ther.* 13:18–22
- Temple S (2023) Advancing cell therapy for neurodegenerative diseases. *Cell Stem Cell* 30:512–529
- Thomson JA et al (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282:1145–1147
- Tiburcy M et al (2017) Defined engineered human myocardium with advanced maturation for applications in heart failure modeling and repair. *Circulation* 135(19):1832–1847
- Van Gelder RN et al (2022) Regenerative and restorative medicine for eye disease. *Nat Med* 28:1149–1156
- Zhang H et al (2022) Epicardial injection of allogeneic human-induced-pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in patients with advanced heart failure: protocol for a phase I/IIa dose-escalation clinical trial. *BMJ Open* 12:e056264

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Therapien zum Zellersatz mit adulten Stammzelltypen

14

Daniel Besser, Halvard B. Bönig, Bernd Giebel,
Hannes Klump und Simone Spuler

14.1 Einleitung

In Kap. 13 „Zelltypen aus menschlichen pluripotenten Zellen und deren Anwendung in Zelltherapien“ werden Zelltherapien, die auf pluripotenten Stammzellen beruhen, dargestellt. Pluripotente Stammzellen sind entweder nur sehr vorübergehend im menschlichen Embryo – menschliche embryonale Stammzellen (ES-Zellen) – vorhanden oder können durch Reprogrammierung von Körperzellen zu menschlichen induzierten Stammzellen (hiPS-Zellen) gewonnen werden. Gewebe und Organe des erwachsenen (adulten) Organismus haben allerdings spezifische Stammzellen, die zur Aufrechterhaltung (Homöostase) und zur Reparatur nach Verletzungen bzw. Schädigungen von Geweben und Organen benötigt werden (De Luca et al. 2019), daher die Bezeichnung adulte oder gewebespezifische Stammzellen. Der historische Nachweis adulter Stammzellen, d. h. Zellen, die sowohl Kopien von sich selbst herstellen kön-

D. Besser (✉)

German Stem Cell Network (GSCN), Berlin, Deutschland
e-mail: d.besser@mdc-berlin.de

H. B. Bönig

Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, und DRK Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen gGmbH, Frankfurt am Main, Deutschland

B. Giebel

Institut für Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Essen, Deutschland

H. Klump

Institut für Transfusionsmedizin und Zelltherapeutika, Blutspendedienst, Universitätsklinikum RWTH Aachen, Aachen, Deutschland

S. Spuler

Experimental and Clinical Research Center, Max Delbrück Center, Berlin, Deutschland

© Der/die Autor(en) 2024

B. Fehse et al. (Hrsg.), *Gen- und Zelltherapie 2.023 – Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-67908-1_14

217

nen als auch in andere Zelltypen differenzieren können, ist den kanadischen Forschern James Till and Ernest McCullough in den 1960er-Jahren mit Blutstammzellen in der Maus gelungen. Sie konnten zeigen, dass Blutstammzellen einer Spendermaus das gesamte Blutsystem in einer Empfängermaus, die kein eigenes Blutsystem mehr besitzt, ersetzen kann. Bereits 1957 konnte Edward Donnall Thomas bei einem Leukämiepatienten zeigen, dass Knochenmarkzellen von dessen eineiigem Bruder nach einer Bestrahlung das Blutsystem neu bilden konnten. Inzwischen ist dieser Mechanismus für Gewebestammzellen in einer Vielzahl von Organen gezeigt worden (Lanza und Atala 2014). Blutstammzellen sind mittlerweile eine Standardtherapie in der klinischen Anwendung (siehe Kolb/Fehse, Kap. 11). Auch in anderen Bereichen werden vermehrt Gewebestammzellen eingesetzt bzw. Therapien in klinischen Studien entwickelt. In diesem Kapitel werden neuartige Anwendungen von hämatopoetischen Stammzellen bei Bluterkrankungen aufgrund von Genmutationen, Sichelzellanämie und β -Thalassämie und bei Autoimmunerkrankungen vorgestellt. Es wird auf die Anwendung von mesenchymalen Stromazellen bei Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankungen (Graft-versus-Host-Disease), bei der Behandlung von chronischen Wunden (chronisch-venöse Ulzera) und bei Morbus Crohn eingegangen. Weiterhin wird der Einsatz von Hautersatz basierend auf Hautstammzellen und der Ersatz der Hornhaut bei Augenverletzungen diskutiert sowie die Anwendung von genetisch veränderten Muskelstammzellen, sog. Satellitenzellen, zur Behandlung von Muskelerkrankungen und -dystrophien dargestellt (De Luca et al. 2019). Darüber hinaus werden die Möglichkeiten der zukünftigen Behandlung mit extrazellulären Vesikeln bzw. Exosomen von Stromazellen beschrieben.

14.2 Hämatopoetische Stammzellen zur Behandlung von genetischen Erkrankungen und zum Immunreset bei Autoimmunerkrankungen

Die Transplantation von blutbildenden (hämatopoetischen) Stammzellen („hematopoietic stem cells“, HSC) hat sich als Standardtherapie bei einer Reihe von hämatologischen Erkrankungen etabliert, bei denen für eine kurative Therapie das blutbildende System ausgetauscht werden muss. Obwohl der Begriff „Stammzelltransplantation“ suggeriert, dass dafür eine reine Population von blutbildenden Stammzellen verwendet wird, ist dies in der klinischen Praxis nicht der Fall (und wäre meist auch nicht sinnvoll). Stattdessen werden Zellpräparate verwendet, die hauptsächlich Vorläuferzellen der verschiedensten Reifungsstadien verschiedener Linien des blutbildenden Systems mit unterschiedlichen Funktionen beinhalten, wie beispielweise Zellen des Immunsystems, Erythrozyten (rote Blutzellen) oder Thrombozyten (Blutplättchen). Im engeren Sinne sind als HSC eigentlich nur diejenigen Zellen zu bezeichnen, die nach einer Transplantation für eine lebenslange, funktionelle Bildung *aller* Linien des Blutes sorgen. In den klinisch eingesetzten Präparationen machen die HSC nur etwa 0,01 % der CD34-positiven¹ Stamm- und Vorläuferzellen („hematopoietic stem and progenitors cells“, HSPC) aus.

¹Das Molekül CD34 ist ein sog. Oberflächenmarker von Blutstamm- und Vorläuferzellen.

Generell gibt es zwei Varianten der Transplantation, die autologe hämatopoetische Stammzelltransplantation („hematopoietic stem cell transplantation“, HSCT), bei der ein Patient die eigenen Stammzellen zurückbekommt, und die allogene HSCT, bei der Zellen eines HLA-passenden Fremdspenders zur Therapie eingesetzt werden. Autologe Transplantationen werden bei bestimmten bösartigen Erkrankungen der Blutbildung wie dem Multiplen Myelom und zunehmend auch bei schweren Autoimmunerkrankungen, für die es zurzeit noch keine anderweitige kurative Behandlung gibt, wie beispielsweise der Sklerodermie, Systemischem Lupus Erythematodes (SLE), Multipler Sklerose oder Morbus Crohn, durchgeführt. Hierbei werden den Patienten die eigenen HSPC entnommen, um im Anschluss eine intensivierte Radio-, Chemo- und/oder Antikörpertherapie durchzuführen, die das blutbildende System im Knochenmark wie auch das Immunsystem des Patienten weitgehend zerstören. Bei Autoimmunerkrankungen ist das primäre Ziel, mit diesem Eingriff diejenigen fehlgeleiteten Immunzellen, die die körpereigenen Zellen attackieren und vernichten, zu eliminieren. Danach bekommen die Patienten ihre eigenen HSPC reinfundiert, die dann die gesamte Blutbildung, und damit auch das Immunsystem, wieder neu aufbauen. Es findet also quasi ein Reset des Immunsystems statt, das selbsttolerant wird, also nicht mehr gegen eigene Zellen vorgeht. Diese Behandlungsform verbessert erwiesenermaßen für viele Patienten die Qualität und Dauer der Krankheitsfreiheit (Remission) (Alexander und Greco 2022).

Im Fall von gut charakterisierten, vererbten monogenen Erkrankungen, die zu funktionalen Defekten im blutbildenden System führen, wie beispielsweise der kongenitalen, kombinierten schweren Immundefizienz („severe combined immunodeficiency“, SCID) oder der Sichelzellerkrankung ist die Gentherapie, d. h. die Transplantation autologer, genetisch korrigierter HSC eine zunehmend attraktive Alternative zur allogenen Stammzelltransplantation, um mit einer einzigen Behandlung eine dauerhafte Heilung des Patienten zu erzielen. Noch ist bei diesen Erkrankungen jedoch die Transplantation von allogenen Stammzellen HLA-identer Geschwister, HLA-passender unverwandter Fremdspender oder haploidenter Verwandter Therapiestandard, der allerdings mit dem signifikanten Risiko einer potenziell schwerwiegenden bis tödlichen Abstoßungsreaktion durch das transplantierte Spenderimmunsystem, der sog. Graft-versus-Host-Disease (GvHD) assoziiert ist (siehe Kolb/Fehse, Kap. 11). Es ist aber zu erwarten, dass sich für diese hämatologischen Erkrankungen die Gentherapie autologer Zellen zunehmend durchsetzen wird, insbesondere wenn sich die aktuell noch sehr hohen Kosten für die Herstellung dieser neuartigen, zellbasierten Arzneimittel (ATMP)² deutlich verringern (für eine Liste zugelassener ATMP aus Stammzellen in Europa siehe Tab. 14.1).

Die zur genetischen Korrektur von HSPC (wie auch für die Herstellung von CAR-T-Zellen; siehe Harrer/Abken, Kap. 10) zurzeit am besten etablierte und daher am häufigsten eingesetzte Methode ist der Gentransfer mithilfe viraler Vektoren, die sich von Retroviren ableiten (gammaretrovirale und lentivirale Vektoren). Nach Rückschlägen aufgrund von Leukämien, die in den 1990er-Jahren durch den ein-

² „Advanced Therapy Medicinal Products“ (ATMP), bei Gentherapeutika spricht man auch von GTMP („Gene Therapy Medicinal Products“).

Tab. 14.1 Zugelassene ATMP aus Stammzellen in Europa [Stand Juli 2023]^a

ChondroCelect® (2009)	ChondroCelect® von TiGenix NV ist eine Implantationssuspension, die autologe (patienteneigene) Knorpelzellen enthält. ChondroCelect® wird bei Erwachsenen zur Reparatur von Knorpelschäden im Knie angewendet. Es wird bei einzelnen Knorpeldefekten in dem unteren Ende des Oberschenkelknochens (Femurkondyle), die Symptome verursachen, angewendet. ChondroCelect® wurde im November 2016 auf Antrag von TiGenix aus kommerziellen Gründen vom Markt genommen.
MACI® (2013)	MACI® („matrix-applied characterised autologous cultured chondrocytes“) ist ein Implantat des dänischen Unternehmens Vericel Denmark Aps, das zur Reparatur von Knorpelschäden an den Knochenenden des Kniegelenks verwendet wurde. Es besteht aus autologen Knorpelzellen, um die Lücken zu füllen, in denen der Knorpel beschädigt ist. MACI® ist ein ATMP, ein sog. „tissue engineered product“. MACI® wurde 2013 als ATMP in Europa zugelassen und im Juli 2018 vom Markt genommen, da Vericel keine weitere Marktzulassung beantragt hat.
Provence® (2013)	Provence® von Dendreon UK Ltd. aus Großbritannien besteht aus autologen, mononukleären Zellen des peripheren Blutes, die spezifisch aktiviert wurden, um körpereigene Immunzellen gegen Krebserkrankungen der Prostata einzusetzen. Es ist für die Behandlung von asymptomatischem oder minimal symptomatischem, metastasierendem, kastrationsresistentem Prostatakarzinom bei männlichen Erwachsenen angezeigt, bei denen eine Chemotherapie klinisch noch nicht indiziert ist. Provence® wurde im Mai 2015 auf Antrag von Dendreon aus kommerziellen Gründen vom Markt genommen.
Holoclar® (2015)	Holoclar® ist eine Stammzellenbehandlung, die im Auge eingesetzt wird, um geschädigte Zellen auf der Oberfläche (Epithel) der Hornhaut, der durchsichtigen Schicht auf der Vorderseite des Auges, die die Iris (den farbigen Teil) bedeckt, zu ersetzen. Die Behandlung wurde von Holostem Therapie Avanzate s. r. l. in Modena, Italien entwickelt. Sie wird bei erwachsenen Patienten mit mäßigem bis schwerem Stammzellmangel in der Limbusregion des Auges eingesetzt, der durch Verbrennungen, einschließlich chemischer Verbrennungen, am Auge verursacht wurde. Patienten mit dieser Erkrankung verfügen nicht über genügend limbale Stammzellen, die normalerweise als Regenerationssystem fungieren und die äußeren Hornhautzellen ersetzen, wenn diese beschädigt werden oder altern. Die Marktzulassung von Holoclar® ist aktiv.
Strimvelis® (2016)	Strimvelis® ist ein Arzneimittel von Orchard Therapeutics BV in den Niederlanden, das zur Behandlung eines schweren Immundefekts infolge eines Adenosin-Desaminase-Mangels (ADA-SCID) angewendet wird. ADA-SCID ist eine seltene Erbkrankheit, bei der es zu einer Veränderung (Mutation) im Gen kommt, das zur Herstellung eines Enzyms (Adenosin-Desaminase, ADA) erforderlich ist. Infolgedessen mangelt es den Patienten am Enzym ADA. Da ADA für die Aufrechterhaltung gesunder Lymphozyten (weiße Blutzellen, die Infektionen abwehren) eine wesentliche Rolle spielt, funktioniert das Immunsystem von Patienten mit ADA-SCID nicht korrekt und ohne wirksame Therapie überleben sie selten länger als 2 Jahre. Strimvelis® wird bei Patienten mit ADA-SCID angewendet, die nicht durch eine Stammzelltransplantation behandelt werden können, da sie keinen geeigneten, passenden oder verwandten Spender haben. Strimvelis® enthält Zellen, die aus dem autologen Knochenmark stammen. Einige der Zellen (die sog. CD34-positiven Zellen) wurden genetisch so verändert, dass sie ein funktionierendes Gen für ADA enthalten. Die Marktzulassung ist aktiv.

Tab. 14.1 (Fortsetzung)

Spherox® (2017)	Spherox® von Co.don GmbH aus Berlin ist ein Präparat aus Sphäroiden aus humanen autologen Matrix-assoziierten Chondrozyten zur Implantation, suspendiert in isotonischer Natriumchloridlösung. Es wird zur Reparatur symptomatischer Gelenkknorpeldefekte der Femurkondyle und der Patella des Knies bei Erwachsenen und Jugendlichen eingesetzt. Die Marktzulassung ist aktiv.
Alofisel® (2018)	Bei Alofisel® von Takeda Pharma A/S handelt es sich um expandierte, humane, allogene, mesenchymale, adulte stromale Zellen, die aus Fettgewebe („expanded adipose stem cells“, eASC) gewonnen wurden. Alofisel® ist zur Behandlung von komplexen perianalen Fisteln bei erwachsenen Patienten mit nicht aktivem bzw. gering aktivem luminalen Morbus Crohn indiziert, wenn die Fisteln unzureichend auf mindestens eine konventionelle oder biologische Therapie angesprochen haben. Die Marktzulassung von Alofisel® ist aktiv.
Zynteglo® (2019)	Zynteglo® wurde von Bluebird Bio Inc. in den USA entwickelt und wird bei Patienten mit β -Thalassämie eingesetzt. Autologe Blutstammzellen von Patienten werden mit einem Lentivirus behandelt, um ein gesundes Gen für β -globin in die Blutstammzellen einzuschleusen und so funktionelle Blutzellen im Patienten zu generieren. Zynteglo® wurde im März 2022 aus wirtschaftlichen Gründen vom europäischen Markt genommen.
Libmeldy® (2019)	Libmeldy® von Orchard Therapeutics aus den Niederlanden ist ein Arzneimittel zur Behandlung von Kindern mit metachromatischer Leukodystrophie (MLD). MLD ist eine seltene Erbkrankheit, bei der eine Veränderung (Mutation) in einem Gen vorliegt, das für die Herstellung des Enzyms Arylsulfatase A (ARSA) benötigt wird, das bestimmte Substanzen (Sulfatide) abbaut. Infolgedessen sammeln sich Sulfatide an und schädigen das Nervensystem und andere Organe, was zu Symptomen wie Gehbehinderung, allmählichem geistigen Verfall und schließlich zum Tod führt. Der Wirkstoff in Libmeldy® sind Stammzellen (CD34-positive Zellen) aus dem eigenen Knochenmark oder Blut des Patienten, die so verändert wurden, dass sie eine Kopie des Gens für ARSA enthalten und sich teilen können, um andere Arten von Blutzellen zu produzieren. Die Marktzulassung ist aktiv.
Skysona® (2021)	Skysona® wurde von Bluebird Bio Inc. in den USA entwickelt und ist ein mit genetisch modifizierten autologen CD34-positiven Zellen angereichertes Zellpräparat, das hämatopoetische Stammzellen enthält. Die Zellen wurden mit einem lentiviralen Vektor ex vivo transduziert, der eine <i>ABCD1</i> -komplementäre Desoxyribonukleinsäure (cDNA) des humanen Adrenoleukodystrophie-Proteins (ALDP) codiert. Skysona® wird für die Behandlung der frühen zerebralen Adrenoleukodystrophie bei jugendlichen Patienten mit einer <i>ABCD1</i> -Genmutation angewendet, für die kein humanes Leukozyten-Antigen(HLA)-kompatibler Geschwisterspender hämatopoetischer Stammzellen zur Verfügung steht. Skysona® wurde vom europäischen Markt genommen.

^aSiehe Webseite der European Medicines Agency (EMA): <https://www.ema.europa.eu/en/medicines> [18.07.2023].

gesetzten Gentransfervektor verursacht wurden, hat sich die Sicherheit der Gentherapie durch Verbesserungen der Vektorarchitektur und der Gentransferprotokolle deutlich erhöht. Der Erfolg dieses Therapieansatzes führte zur ersten Zulassung einer Stammzellgentherapie auf dem europäischen Binnenmarkt im Jahr 2016 zur Behandlung einer schweren kombinierten Immundefizienz (ADA-SCID-Variante).³ Beim Produkt mit dem Handelsnamen Strimvelis™ handelt es sich um autologe CD34-positive HSPC, in die mithilfe eines retroviralen Vektors die codierende Sequenz für das Adenosin-Desaminase-Enzym eingebracht wird, bevor sie dem immundefizienten Patienten zurückgegeben werden. Mittlerweile sind verschiedene Produkte zur Therapie von HSPC durch lenti- bzw. gammaretroviralen Gentransfer weltweit zugelassen wie z. B. Lentiglobin (Zynteglo®, Bluebirdbio) zur Behandlung der β -Thalassämie oder Skysona® zur Behandlung der X-chromosomal vererbten, zerebralen Adrenoleukodystrophie bei Kindern. Diese beiden Therapeutika wurden allerdings aus wirtschaftlichen Gründen vom europäischen Markt zurückgezogen (siehe Alex/König, Kap. 22). Darüber hinaus laufen zurzeit eine Reihe vielversprechender klinischer Studien zur Sicherheit und Wirksamkeit der lenti- und gammaretroviralen Gentherapie für etliche weitere Krankheiten wie beispielsweise das Hurler-Syndrom (Mucopolysaccharidosis Typ I), Mucopolysaccharidosis Typ IIIA, Wiskott-Aldrich-Syndrom, die septische Granulomatose, Morbus Fabry oder die Fanconi Anämie (Naldini et al. 2022).

Bei der Gentherapie mithilfe viralen Gentransfers wird das defekte Gen nicht direkt repariert, sondern die fehlende Genfunktion durch eine zusätzliche, aber intakte Kopie ersetzt (Genaddition), die (relativ) zufällig ins Genom integriert wird. Diese Off-Target-Veränderung des Genoms ist deshalb mit einem potenziellen Risiko der Leukämogenese bzw. Lymphomentstehung durch Onkogenaktivierung bzw. Tumorsuppressorinaktivierung verbunden – trotz der verbesserten Architektur der eingesetzten viralen Vektoren. Um die Sicherheit der Gentherapie weiter zu erhöhen, ist es wünschenswert, den genetischen Defekt durch die gezielte und präzise, idealerweise DNA-sequenzgenaue Veränderung am Genort zu reparieren, die sog. Geneditierung. Seit 2018 wurden auf Basis dieser Methode eine Reihe von klinischen Studien zur Behandlung von Hämoglobinopathien initiiert (Zarghamian et al. 2022). Die bisherigen Ergebnisse zur Therapie der β -Thalassämie und Sichelzellerkrankheit nach Transplantation von autologen HSPC, die entweder durch CRISPR/Cas9 oder eine Zinkfinger-Endonuklease geneditiert wurden, sind sehr vielversprechend (Frangoul et al. 2021; Alavi et al. 2021). Der therapeutische Effekt wurde über die gezielte Ausschaltung eines Transkriptionsfaktor-codierenden Gens (*BCL11A*) erreicht, das zu einer verstärkten Expression von fötalem Hämoglobin führte und dadurch die Bildung von sichelzellauslösenden Polymeren des defekten Sichelzell-Hämoglobin-Moleküls hemmte. Eine Marktzulassung der unter dem Studiennamen CTX001 bekannt gewordenen CRISPR/Cas9-Gentherapie (jetzt:

³Es existieren verschiedene Formen angeborener schwerer kombinierter Immundefizienzen („severe combined immunodeficiency“). Bei ADA-SCID sind beide Kopien des Adenosin-Desaminase (die mütterliche und die väterliche) defekt. Das Enzym ADA ist in bestimmten Zellen des Körpers, vor allem in T-Lymphozyten, essenziell für den DNA-Stoffwechsel und damit die Zellteilung.

exagamglogene autotemcel bzw. Exa-cel) wurde mittlerweile von der Firma Vertex/CRISPR Therapeutics bei der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) und der European Medicines Agency (EMA) beantragt. Trotz dieser sehr positiven Zwischenergebnisse wird wahrscheinlich eine langjährige Prüfung der Arzneimittelsicherheit in Patienten notwendig werden, da die in diesen Studien eingesetzte Cas9-Nuklease Doppelstrangbrüche in der DNA katalysiert und dadurch ausgedehnte Mutationen verursachen kann (Turchiano et al. 2021). Eine neue Generation von verbesserten Nukleasevarianten mit deutlich geringerer Mutagenizität, die sog. Base-Editing und Prime-Editing ermöglichen, werden zurzeit präklinisch getestet (Carusillo et al. 2023; siehe Fehse et al., Kap. 7).

Die aus genetischer Perspektive möglicherweise sicherste Form der zellulären Ex-vivo-Gentherapie wäre die Verwendung von autologen, patientenspezifischen induzierten pluripotenten Stammzellen („induced pluripotent stem cells“, iPSC) als Ausgangspunkt zur Herstellung von genkorrigierten hämatopoetischen Stammzellen. Im Gegensatz zu den HSC, die bis heute nicht ohne Verlust ihrer Stammzeleigenschaften effizient vermehrt werden können, können iPSC als Einzelzellen effizient zu sehr großen Zellzahlen unter GMP-kompatiblen Bedingungen expandiert werden (siehe dazu Abschn. 13.7). Dies würde die Möglichkeit eröffnen, nach erfolgter Genreparatur aus ausgesuchten, umfangreich charakterisierten Klonen Blutstammzellen (oder weiter differenzierte Funktionsträger wie z. B. Erythrozyten, Thrombozyten oder Immunzellen wie z. B. T-Zellen) zu produzieren und zur Transplantation bzw. Transfusion einzusetzen (siehe auch Abschn. 13.4). Allerdings wäre der zeitliche und ökonomische Aufwand, der mit diesem Vorgehen verbunden ist, sehr hoch. Eine Alternative könnte die Etablierung von iPSC-Banken sein, die in den transplantationsrelevanten Genlozi extensiv charakterisiert worden sind und als Ausgangsmaterial für die Herstellung allogener Zellersatztherapeutika verwendet werden können. Obwohl bereits erste klinische Studien mit iPSC-abgeleiteten CAR-T-Zellen durchgeführt werden (Mehta et al. 2022), existieren noch keine Protokolle, die eine gerichtete und effiziente Produktion von hämatopoetischen Stammzellen aus iPSC ermöglichen. Es kann aber erwartet werden, dass genkorrigierte blutbildende Stammzellen aus iPSC-Zellen in absehbarer Zukunft ebenfalls Eingang in präklinische und klinische Studien finden werden.

14.3 Therapeutischer Einsatz von mesenchymalen Stromalen Zellen

Mesenchymale Stromale Zellen („mesenchymal stromal cells“, MSC) sind unreife Bindegewebszellen, die an Zellkulturplastik anhaftend (adhärent) wachsen und aus einer Vielzahl von Geweben isoliert werden können. Da der Nachweis der unbegrenzten Selbsterneuerungsfähigkeit, der ein Hauptkriterium für eine Klassifizierung als Stammzelle darstellt, bisher in der Zellkultur nicht erbracht werden konnte, soll der Begriff „mesenchymale Stammzellen“ hier vermieden werden zugunsten von „mesenchymale Stromale Zellen“. MSC können in serum- oder plasmahaltigen konventionellen Kulturmedien ohne spezifische Wachstumsfaktoren vermehrt werden; derart expandierte MSC besitzen immunmodulierende Effekte auf

Entzündungsgeschehen (Rojewski et al. 2018). Aus diesen Beobachtungen wurde die Möglichkeit einer therapeutischen Wirksamkeit bei überschießenden Immunreaktionen abgeleitet. Tatsächlich gelang es Anfang des Jahrtausends einer schwedischen Gruppe, mit MSC aus Knochenmark eine schwere GvHD, eine Komplikation der allogenen Blutstammzelltransplantation, zu kontrollieren (LeBlanc et al. 2004). Seither gab es eine Vielzahl von Versuchen, diesen Effekt systematisch mit MSC wechselnder pharmazeutischer Qualität zu reproduzieren, die aber größtenteils enttäuschten. In Deutschland ist derzeit ein MSC-Präparat (Obnifix®), in der Indikation „schwere, Steroid-refraktäre (d. h. nicht auf hohe Dosen von Cortison ansprechende) GvHD“ im Rahmen einer nationalen Genehmigung (Krankenhausausnahme, § 4b Arzneimittelgesetz) erhältlich (Maucher 2019), während das Medikament gleichzeitig in einer europäischen Zulassungsstudie an mehr als 40 Zentren kontrolliert gegen die beste jeweils verfügbare konventionelle Alternativtherapie geprüft wird.⁴ Obnifix® wird einmal wöchentlich in einer Dosis von 1 bis 2 Mio. MSC/kg Körpergewicht des Patienten in eine Vene infundiert. Obnifix® besteht aus Knochenmark-MSK und unterscheidet sich von dem initial in Schweden sowie weltweit in vielen anderen Studien und Fallserien bei der GvHD angewandten MSC-Präparaten dadurch, dass es durch Zusammenführen mononukleärer Knochenmarkszellen, also einkernige Zellen mit rundem Zellkern, von acht Spendern hergestellt wird (Kuçi et al. 2016). So reagieren in den ersten Tagen der Herstellung Immunzellen der acht Spender miteinander, was in der Kulturschale eine GvHD nachbildet und zu einer Aktivierung antiinflammatorischer Signalwege in den MSC führt. Wegen dieses Mechanismus vermuten die Entwickler für Obnifix® eine stärkere Wirkung bei der GvHD als mit konventionellen MSC, was einen Durchbruch bei der meist tödlich verlaufenden Cortison-refraktären GvHD darstellen würde. Eine Behandlungsserie mit Obnifix® mit insgesamt 92 Patienten zeigte eine Verbesserung der GvHD in der überwiegenden Zahl der Fälle, darunter bei mehr als der Hälfte der Patienten ein komplettes Ansprechen der Therapie, d. h. Freiheit von GvHD, was mit einer hohen Überlebenswahrscheinlichkeit einherging (Bönig et al. 2019). Die Ursächlichkeit von Obnifix® für die klinische Verbesserung wird in der genannten klinischen Studie geprüft. Ein zweites MSC-Präparat (Amesana®) wird aus gesundem Hautgewebe isoliert. Amesana® wird in einer Dosis von 1 Mio./cm² Wundfläche nach gründlicher chirurgischer Entfernung toten Gewebes auf nicht heilende Unterschenkelgeschwüre infolge einer Beinveneninsuffizienz äußerlich aufgetragen. Ein geeigneter Wundverband immobilisiert die Zellen auf der eiternden und schmerzenden Wunde (Paul-Ehrlich-Institut 2021). Das Präparat ist angereichert für eine Subpopulation der MSC, nämlich jene, die den ABC-Transporter ABCB5 tragen. ABCB5 aktiviert spezialisierte Fresszellen (Makrophagen) aus dem Blut, entzündungshemmende und Gefäßeinsprossung-fördernde Botenstoffe freizusetzen, was als mutmaßlicher Wirkmechanismus bei der Behandlung chronisch venöser Geschwüre angesehen wird. Klinische Daten von 31 Patienten, die Amesana® im Rahmen einer nicht kontrollierten Phase-I/IIa-Studie erhalten hatten, liegen der nationalen Genehmigung gem. § 4b zugrunde. Bei zwei Drittel der Patienten

⁴Siehe NCT04629833: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT04629833> [10.07.2023].

war nach 12 Wochen eine Wundflächenverkleinerung um mindestens 30 % zu beobachten; wo ein Ansprechen messbar war, war dieses meist stark, betrug im Mittel mehr als 80 % (Kerstan et al. 2022).

Unter dem Einfluss spezifischer Medienzusätze gelingt eine Differenzierung von MSC in verschiedene Bindegewebslinien, u. a. Fett-, Knorpel- oder Knochengewebe. Ob diese Differenzierung lediglich in der Zellkultur geschieht oder auch nach Übertragung in den Körper, wird kontrovers diskutiert. In jedem Fall aber können MSC durch in Reaktion auf Entzündungsmediatoren freigesetzte Botenstoffe einer Geweberegeneration Vorschub leisten. So zeigten MSC in präklinischen und frühen klinischen Studien Potenzial zur Förderung der Knochenheilung sowie in weiteren regenerativen Indikationen (Rojewski et al. 2018). Ein MSC-Fertigarzneimittel, das nach erfolgreicher klinischer Prüfung in einer regenerativen Indikation bereits europäisch zugelassen ist, ist Alofisel®. Alofisel® wird aus im Rahmen von Fettabsaugungen gewonnenem Fettgewebe isoliert. Alofisel® wird bei nicht heilenden perianalen Fisteln, wie sie bei der chronischen Darmentzündung Morbus Crohn entstehen können, lokal durch Einspritzen in die Fisteln angewendet. Die Dosis beträgt 120 Mio. Zellen (EMA 2018). In der Studie, die die Zulassung von Alofisel® in Europa nach sich zog, führte Alofisel® bei beinahe der Hälfte der Patienten zu einem Abheilen der Fistel, während ohne Therapie nur gut ein Drittel der Patienten eine Fistelabheilung erfuhr (Panés et al. 2016).

Zusammenfassend sind also derzeit in Deutschland drei pharmazeutisch sehr unterschiedliche MSC-Präparate, alle drei aus Zellen gesunder Spender her- und als ungerichtetes Fertigmedikament zur Verfügung gestellt, für sehr unterschiedliche Krankheitsbilder für Patienten verfügbar. Die beiden mit einer zeitlich befristeten nationalen Genehmigung belegten Präparate müssen ihre Wirksamkeit im Rahmen kontrollierter Studien noch definitiv zeigen; lediglich Alofisel® hat bereits das regulatorisch hochwertigere, unbefristete europäische Zulassungsverfahren durchlaufen.

14.4 Zellersatz bei Hautverletzungen und -erkrankungen, Hornhautverletzungen und Haareratz

Die Haut als äußerste Zellschicht schützt den Organismus vor seiner Umwelt und kann daher Schädigungen abwehren und sich nach Schädigung effektiv regenerieren. Wenn diese Schädigungen allerdings zu großflächig sind, z. B. nach Verbrennungen dritten Grades oder infolge von Genmutationen (wie bei Epidermolysis bullosa, siehe unten), die die Integrität dieses größten Organs des Körpers massiv schädigen, reicht das natürliche Regenerationspotenzial der Haut zur Reparatur nicht aus. Inzwischen gibt es klinisch etablierte Methoden, Hautregeneration in der Zellkultur durchzuführen und mit den so gewonnenen Präparaten Verbrennungsoffer am Leben zu erhalten. 1983 war es dem Forscherteam um Howard Green zum erstem Mal gelungen, zwei Jungen, die beim Spielen mit Lösungsmittel hochgradige Verbrennungen davontrugen, gesunde Haut, die im Labor expandiert wurde, zu transplantieren. Die Kinder hätten die Verletzungen nicht überlebt, doch mittels der Hauttransplantation konnte ihnen das Leben gerettet werden (Green et al. 2006).

Die großflächige Expansion der gesunden Hautpartien, die aus nicht geschädigten Hautbereichen gewonnen werden konnten, basiert auf der Funktion von Hautstammzellen, sog. Basalzellen, die *in vitro* die Expansion der Epidermis (Oberhaut) vorantreiben. Heutzutage ist die Transplantation von Haut eine Standardtherapie, die weltweit vielen Opfern von Unfällen und Verbrennungen das Leben gerettet hat. Allerdings bestehen nach einer großflächigen Hauttransplantation gewisse Einschränkungen, da die transplantierte Haut nur die Epidermis bildet ohne die Hautanhangsorgane wie Schweiß- und Talgdrüsen und Haare. Die Regulation der Körpertemperatur ist ohne die Schweißdrüsen eingeschränkt und die Faltung der Haut ist eine zentrale Funktion der Talgdrüsen (Barrandon et al. 2012). Es wird daher intensiv erforscht, wie sich diese Drüsenzellen *in vitro* herstellen lassen und in die Haut integriert werden können (Hsu und Fuchs 2022).

Ein weiterer Durchbruch, der kürzlich im Feld der Forschung mit epidermalen Stammzellen zu verzeichnen war, gelang dem Forscherteam um Michele De Luca (Hirsch et al. 2017). Ein siebenjähriger Junge litt an einer Mutation im Gen für das Protein Laminin-332, das für die Verbindung (Adhärenz) der Epidermis an die darunterliegende Dermis (Lederhaut) von zentraler Bedeutung ist. Ist die Adhärenz infolge dieser oder ähnlicher Mutationen gestört, kommt es zur oftmals tödlichen Krankheit Epidermolysis bullosa infolge der Ablösung von der Epidermis und der Bildung von großflächigen Wunden mit folgenden Infektionen. Kinder mit dieser Erkrankung werden daher auch Schmetterlingskinder genannt, da die Haut empfindlich wie ein Schmetterlingsflügel ist. Der siebenjährige Junge wurde mit Wunden über den gesamten Körper in Bochum in die Intensivstation eingeliefert; 80 % der Epidermis war verloren und am ganzen Körper waren septische Wunden entstanden. Außer der Wundversorgung konnte dem Jungen nicht geholfen werden und sein Überleben war sehr unwahrscheinlich. In einem Heilversuch wurde nur ein kleines Stück gesunder Haut von Bochum nach Modena in Italien in das Labor von Michele de Luca gebracht, wo mithilfe einer Genfähre eine korrekte Kopie des Gens für Laminin-332 in die Zellen des Hautstücks eingebracht wurde. Die Haut wurde, ähnlich wie bei der Behandlung von Verbrennungsoffern, in der Zellkultur expandiert, zurück nach Bochum in die Intensivstation gebracht und dem Jungen in vier Operationen transplantiert. Diese Behandlung war erfolgreich, sodass der Junge nach wenigen Monaten die Intensivstation verlassen konnte und wieder in die Schule gehen kann. Die Haut des Jungen trägt nun größtenteils das fehlerfreie Gen und das gesunde Protein sorgt für die korrekte Verbindung zwischen Epidermis und Dermis. Es konnte in diesem Heilversuch auch nachgewiesen werden, welche Zellen die langfristige Stammzellpopulation in der Haut darstellen (Hirsch et al. 2017; De Rosa et al. 2023).

Nach einem ähnlichen Prinzip wie die Stammzellen in der Epidermis zur Regeneration der Haut sorgen, erneuern limbale Stammzellen an der Hornhaut des Auges die Hornhaut nach Schädigungen. Führen Unfälle mit Chemikalien zur Schädigung der Hornhaut des Auges einschließlich der Schädigung der limbalen Stammzellen, kommt es zu Vernarbung des Auges durch Bindegewebszellen und in der Folge zu Erblindung, da das Bindegewebe nicht lichtdurchlässig ist. Mit ähnlichen Verfahren wie bei der Hauterneuerung können limbale Stammzellen in Kultur ge-

nommen und für die Reparatur der Hornhaut eingesetzt werden. In Europa wurde diese Technologie ebenfalls in Modena in der Arbeitsgruppe um Graziella Pellegrini und Michele De Luca zur Marktreife gebracht. Das Produkt Holoclar®, das von dem Forscherteam entwickelt wurde, stellt eines der ersten zugelassenen Arzneimittel für neuartige Therapien und das erste nicht HSC-basierte Stammzellpräparat in Europa dar (Pellegrini et al. 2018; EMA 2015).

Die Fortschritte auf dem Gebiet der Hautstammzellen haben auch die Forschung an Haarstammzellen positiv beeinflusst. Der Haarfollikel (HF) ist eine komplexe Struktur, die aus mehreren verschiedenen Zellschichten besteht. Der HF ist ein ekto-dermales Anhängsel in der Haut. Die Fortschritte in der Forschung haben die Identifizierung zahlreicher Gene und Signalwege ermöglicht, die an der Morphogenese und dem Zyklus des HF beteiligt sind. Darüber hinaus werden Mutationen in einigen dieser Gene mit erblichen Haarstörungen beim Menschen in Verbindung gebracht. Die Identifizierung der ursächlichen Gene für Haarkrankheiten hat zu einem besseren Verständnis der entscheidenden Rolle dieser Gene bei der HF-Morphogenese, der Entwicklung und dem Haarwachstum beim Menschen geführt. Die Erkrankung Alopecia areata (kreisrunder Haarausfall), die auf eine Autoimmunerkrankung zurückzuführen ist, kann inzwischen durch Haarstammzellen effektiv behandelt werden (Shimomura und Christiano 2010). Auch bei anderen Formen des Haarausfalls wird an Therapien mit Haarstammzellen geforscht (Talebzadeh und Talebzadeh 2023). Es besteht die Hoffnung, dass ähnlich wie bei der Regeneration der Haut und der Hornhaut auch in absehbarer Zeit die Regeneration der Haare und anderer Hautanhangsorgane, wie Schweiß- und Talgdrüsen, gelingt und die Behandlung von Patienten durch Stammzellen nach Verbrennungen und bei Haarausfall entscheidend verbessert werden kann.

14.5 Genetisch modifizierte Satellitenzellen der Muskeln zur Behandlung von Muskeldystrophien

Muskeldystrophien sind eine Gruppe von etwa 50 verschiedenen, genetisch bedingten Krankheiten, die im Kindesalter auftreten und unaufhaltsam fortschreiten bis zur kompletten Lähmung von Armen, Beinen und Atemmuskulatur. Ursächlich dafür ist ein Umbau des Muskels in Bindegewebe und Fett. Für diese Gruppe von Krankheiten gibt es keine Therapien, die an der Ursache ansetzen, sondern unterstützende Hilfsmittel (Pflegebetten, Rollstühle), künstliche Beatmung und Physiotherapie. Der Mensch besitzt etwa 700 Muskeln – verteilt von Kopf bis Fuß. Daher gibt es auch keine Möglichkeit, das Organ „Muskel“ einfach zu transplantieren, wie es heute bei schwerwiegenden Erkrankungen von Herz, Leber, Lunge, Niere oder Bauchspeicheldrüse durchgeführt wird.

Muskelgewebe hat organspezifische Stammzellen, die wegen ihrer anatomischen Lokalisation auch Satellitenzellen genannt werden. Die Satellitenzellen sind die Zellen, die den Muskel nach Verletzungen effektiv regenerieren und auch als neu-gebildete Stammzellen dieses wichtige Zellreservoir aufrechterhalten. Bei Muskeldystrophien sind auch die Muskelstammzellen von den krankmachenden Gen-

mutationen betroffen. Im Falle einer genetischen Reparatur von Muskelstammzellen von Muskeldystrophiepatienten würden die therapierten Muskelabschnitte ihre volle Regenerationsfähigkeit erhalten.

Vor 30 Jahren wurde die Hoffnung auf eine Stammzelltherapie bei Muskeldystrophie wegen einer erfolglosen klinischen Studie gedämpft. Damals waren die molekularen Charakteristika dieser interessanten Zellen noch nicht erforscht und auch nicht die Bedingungen, unter denen sie ihr regeneratives Potenzial entfalten können. Das hat sich heute geändert. Zwei klinische Studien, die Muskelstammzellen (PHSats genannt) nach einem neuen, patentierten Verfahren in einer Erstanwendung an Patienten prüfen, sind durch die öffentliche Hand finanziert und von den Ethikkommissionen genehmigt (Marg et al. 2014, 2019). Bei der ersten Studie werden PHSats zum Neuaufbau eines kleinen Muskels eingesetzt, der embryonal nicht richtig angelegt wurde (MuST-Studie).⁵ In der zweiten Studie werden PHSats von Muskeldystrophiepatienten isoliert, genetisch korrigiert und dann vermehrt (GenPHSats-bASKet).⁶ Diese korrigierten Zellen werden dann in definierte Muskeln der Patienten injiziert. Die Patienten erhalten ihre eigenen Zellen zurück, es handelt sich also um ein autologes Verfahren. Die genetische Korrektur erfolgt durch Genome-Editing mithilfe des CRISPR/Cas9-Verfahrens und dessen Weiterentwicklungen (siehe Fehse et al., Kap. 7). Die CRISPR/Cas-„Genschere“ wird als mRNA in die Muskelstammzellen eingeschleust. Somit sollen nun auch Patienten mit Muskeldystrophien von den neuesten molekularen Entwicklungen profitieren.

14.6 Extrazelluläre Vesikel (Exosomen) von Stammzellen in der therapeutischen Anwendung

MSC werden – wie bereits beschrieben (siehe Abschn. 14.3) – in vielen klinischen Studien therapeutisch eingesetzt. Entgegen ursprünglichen Annahmen, dass die Nachkommenschaft transplantierter MSC in degenerativen Erkrankungen verloren gegangene Zellen ersetzen bzw. in direktem Kontakt Funktionen von Immunzellen modulieren, zeigte es sich, dass MSC ihre Wirkung über parakrine Mechanismen vermitteln, d. h. über Faktoren, die MSC an ihre Umgebung abgeben. Hier konnten extrazelluläre Vesikel (EV), biologische Nanopartikel, als die aktiven Komponenten identifiziert werden (Lener et al. 2015). EV werden von nahezu allen Körperzellen über verschiedene Prozesse abgegeben. Die prominentesten EV, die Exosomen, entstammen dem endosomalen System, einem intrazellulären Transportsystem in Zellen, das neben vielen Funktionen und löslichen Faktoren auch kleine Vesikel als Exosomen an die extrazelluläre Umgebung abgeben kann.

EV sind u. a. essenzielle Komponenten eines erst unlängst entdeckten interzellulären Kommunikationssystems und weisen strukturelle Ähnlichkeiten zu Viren auf. Je nach Ursprung können EV verschiedene physiologische bzw. pathophysiologische Prozesse steuern und beispielsweise Funktionen des Immunsystems modulieren (Yanez-Mo et al.

⁵ Siehe NCT04729582: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT04729582> [10.07.2023].

⁶ Siehe NCT05588401: <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT05588401> [10.07.2023].

2015). Besonders in ihrer immunmodulierenden Funktion wird ein großes therapeutisches Potenzial gesehen. Ausgestattet mit einer molekularen Komposition, die auf ihren Ursprung schließen lässt, werden sie aber ebenso als eine neue Klasse von Biomarkern für eine Vielzahl an Erkrankungen angesehen; beispielsweise bestehen große Hoffnungen, über EV diverse Tumorerkrankungen frühzeitig zu erkennen (Fais et al. 2016).

EV von MSC wurden klinisch weltweit erstmals 2011 bei einer ansonsten behandlungsrefraktären GvHD-Patientin eingesetzt. Die 14-tägige Behandlung, die am Universitätsklinikum Essen stattfand und bei der ein MSC-EV-Präparat in 7 sich steigenden Dosen eingesetzt wurde, konnte nachhaltig die Symptomatik der Patientin verbessern (Kordelas et al. 2014). Nachdem MSC-EV auch in vielen verschiedenen präklinischen Modellen therapeutische Wirkungen zeigten, gibt es inzwischen auch immer mehr klinische Applikationen. Beispielsweise wurden MSC-EV bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung, bei COVID-19-Patienten, während einer Cochleaimplantat-OP sowie zur Psoriasis-Behandlung erfolgreich eingesetzt (Lai et al. 2023; Nassar et al. 2016; Sengupta et al. 2020; Warnecke et al. 2021). Da die Filtration durch Filter mit Porengrößen von 220 nm eine der anerkannten Sterilisationsmethoden ist und EV 70–150 nm groß sind, lassen sich EV-Produkte steril filtrieren. Des Weiteren sind diese EV-Produkte in der allgemeinen Handhabung sehr viel einfacher als MSC-Präparate (Lener et al. 2015). Da EV nicht selbstreplizierend sind und sie auch von MSC, die unsterblich gemacht wurden, nachweislich funktionell produziert werden können, sollten sich MSC-EV prinzipiell deutlich skaliert und standardisierter produzieren lassen als Zellprodukte primärer MSC. Aufgrund der Tatsache, dass die MSC-Applikation als prinzipiell sicher gilt und auch therapeutisch applizierte MSC-EV im Patienten abgeben sowie EV täglich in großen Mengen mit gängigen Blutprodukten transfundiert werden, wird in der Applikation therapeutischer MSC-EV kein erhöhtes Sicherheitsrisiko gesehen (Lener et al. 2015). Aufgrund der Neuartigkeit von EV als therapeutische Wirkstoffe, die ebenso wie parentale MSC multifunktionell wirken, gibt es aber noch etliche Herausforderungen zu bewältigen, bevor sie in der Klinik routinemäßig eingesetzt werden können. Neben der GMP-konformen Produktion und der technischen Herausforderung, submikroskopische Partikel ausreichend zu charakterisieren, wird es nicht trivial sein, die exakten Mechanismen zu entschlüsseln, mit denen MSC-EV ihre therapeutische Wirkung vermitteln. Außer dass sie die Funktion verschiedener Immunzellen modulieren können, scheinen sie auch einen direkten Effekt auf Endothelzellen sowie auf gewebespezifische Stammzellen auszuüben. Nach gegenwärtigem Verständnis können sie pathophysiologische Konstellationen multifaktoriell bekämpfen und so Symptomatiken verschiedener bislang mit individuellen Wirkstoffen nicht erfolgreich therapierbarer Krankheiten verbessern. Hierin liegt aber auch eine besondere Schwierigkeit, denn verbunden mit der multifaktoriellen Wirkungsweise gibt es nicht den *einen* molekularen Mechanismus, der angesteuert wird, sodass die funktionelle Testung von EV-Präparaten unterschiedliche Verfahren erfordert, die einzelne essenzielle Funktionsattribute von EV-Präparaten in sog. Potency-Assays auslesen. Ebenso wie im therapeutischen MSC-Feld stellt die Etablierung robuster, von den Behörden akzeptierter Verfahren aber eine bislang nur selten überwundene Hürde dar (Gimona et al. 2021).

Können die Herausforderungen erfolgreich bewältigt werden, erscheinen MSC-EV als sehr vielversprechende zukünftige „zellfreie Zelltherapeutika“ oder kurz als Zelltherapeutika 2.0.

14.7 Ausblick

Die oben beschriebenen Anwendungen für Stammzellen aus dem Gewebe, also adulten Ursprungs, zeigen die große Bandbreite des Einsatzes dieser Zelltypen für mögliche und bereits existierende klinische Anwendungen. Speziell bei HSC sind die Möglichkeiten inzwischen vielfältig, auch über die Anwendung bei Leukämie und Lymphomen hinaus. Ursprünglich wurde der Begriff „adulte Stammzellen“ oft gleichgesetzt mit den mesenchymalen Stromal Zellen, die oft auch als mesenchymale Stammzellen bezeichnet wurden. Trotz inzwischen mehr als 1600 klinischen Studien mit diesen Zelltypen,⁷ sind bisher nur wenige klinisch relevante Produkte auf dem europäischen Markt, die auf diesen Zelltypen beruhen (Panés et al. 2016; Kerstan et al. 2022). Es ist zu hoffen, dass sich zukünftig, eventuell auch mit dem Einsatz der EV von MSC, weitere Anwendungen ergeben. Leider finden diese Zellen auch oft Anwendung in ungeprüften Therapien (siehe Zenke, Kap. 15). Eine große Problematik für die Anwendung von Gewebestammzellen ist die Heterogenität der Zellprodukte, die in weiterer Forschung kontrolliert werden muss. Zusammenfassend ist festzustellen, dass eine rigorose Grundlagenforschung mit der Anwendung der Zellen in klinischen Studien parallel durchgeführt werden sollte, um die Biologie der Zellen eingehend zu verstehen und in den klinischen Entwicklungen umzusetzen. Die Grundlagenforschung sollte hierbei nicht nur die Grundlage für die angewandte Forschung sein, sondern begleitend zur präklinischen und klinischen Entwicklung mitgedacht und finanziert werden. Wie in den Kap. 13 und 14 beschrieben, gibt es eine ganze Reihe von vielversprechenden Ansätzen in der Stammzellforschung sowohl mit pluripotenten Stammzellen als auch mit Gewebestammzellen (siehe auch Tab. 14.1). Es ist eine breite Forschung mit allen Stammzelltypen angezeigt, ohne die Fokussierung auf nur einige wenige Stammzelltypen, um für eine Reihe von unheilbaren oder nur schwer behandelbaren Krankheiten eine Therapiemöglichkeit zu entwickeln.

Literatur

- Alavi A et al (2021) Preliminary safety and efficacy results from Precizn-1: an ongoing phase 1/2 study on zinc finger nuclease-modified autologous CD34+ HSPCs for sickle cell disease (SCD). *Blood* 138:2930
- Alexander T, Greco R (2022) Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies for autoimmune diseases: overview and future considerations from the Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 57:1055–1062

⁷Siehe Clinicaltrials.gov: <https://clinicaltrials.gov/search?term=Mesenchymal%20Stem%20Cells%20OR%20Mesenchymal%20Stromal%20Cells> [17.07.2023].

- Barrandon Y et al (2012) Capturing epidermal stemness for regenerative medicine. *Semin Cell Dev Biol.* 23:937–944
- Bönig H et al (2019) Children and adults with refractory acute graft-versus-host disease respond to treatment with the mesenchymal stromal cell preparation „MSC-FFM“ – outcome report of 92 patients. *Cells* 8:1577
- Carusillo A et al (2023) A novel Cas9 fusion protein promotes targeted genome editing with reduced mutational burden in primary human cells. *Nucleic Acids Res.* 51:4660–4673
- De Luca M et al (2019) Advances in stem cell research and therapeutic development. *Nat Cell Biol.* 21:801–811
- De Rosa L et al (2023) Stairways to advanced therapies for epidermolysis bullosa. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 15:a041229
- EMA (2015) Zusammenfassung des EPAR für die Öffentlichkeit, Holoclar. EMA/6865/2015. Unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/holoclar-epar-summary-public_de.pdf. Zugegriffen am 12.06.2023
- EMA (2018) Zusammenfassung des EPAR für die Öffentlichkeit, Alofisel. EMA/1380/2018. Unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/alofisel-epar-summary-public_de.pdf. Zugegriffen am 12.06.2023
- Fais S et al (2016) Evidence-based clinical use of nanoscale extracellular vesicles in nanomedicine. *ACS Nano* 10:3886–3899
- Frangoul H et al (2021) CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -Thalassemia. *N Engl J Med* 384(3):252–260
- Gimona M et al (2021) Critical considerations for the development of potency tests for therapeutic applications of mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles. *Cytotherapy* 23:373–380
- Green H et al (2006) Regeneration of squamous epithelia from stem cells of cultured grafts. *Regen Med* 1:45–57
- Hirsch T et al (2017) Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells. *Nature* 551:327–332
- Hsu YC, Fuchs E (2022) Building and maintaining the skin. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 14:a040840
- Kerstan A et al (2022) Allogeneic ABCB5+ mesenchymal stem cells for treatment-refractory chronic venous ulcers: a phase I/IIa clinical trial. *JID Innov* 2:100067
- Kordelas L et al (2014) MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease. *Leukemia* 28:970–973
- Kuçi Z et al (2016) Mesenchymal stromal cells from pooled mononuclear cells of multiple bone marrow donors as rescue therapy in pediatric severe steroid-refractory graft-versus-host disease: a multicenter survey. *Haematologica* 101:985–894
- Lai RC et al (2023) A roadmap from research to clinical testing of mesenchymal stromal cell exosomes in the treatment of psoriasis. *Cytotherapy* 25:815–820
- Lanza R, Atala A (Hrsg) (2014) *Essentials of stem cell biology*, 3. Aufl. Academic, San Diego/London/Waltham
- LeBlanc K et al (2004) Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 363:1439–1441
- Lener T et al (2015) Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials – an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles* 4:30087
- Marg A et al (2014) Human satellite cells have regenerative capacity and are genetically manipulable. *J Clin Invest* 124:4257–4265
- Marg A et al (2019) Human muscle-derived CLEC14A-positive cells regenerate muscle independent of PAX7. *Nat Commun* 10:5776
- Maucher IV (2019) Neueinführung Obnitix bei steroid-refraktärer akuter Graft-versus-Host-Reaktion. In: Gelbe Liste Pharmindex. Unter: <https://www.gelbe-liste.de/neue-medikamente/obnitix>. Zugegriffen am 12.06.2023
- Mehta A et al (2022) Interim phase I clinical data of FT819-101, a study of the first-ever, off-the-shelf, iPSC-derived TCR-less CD19 CAR T-cell therapy for patients with relapsed/refractory B-cell malignancies. *Blood* 140(1):4577–4578

- Naldini L et al (2022) The EHA research roadmap: hematopoietic stem cell gene therapy. *Hemisphere* 6:e671
- Nassar W et al (2016) Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases. *Biomater Res* 20:21
- Panés J et al (2016) ADMIRE CD study group collaborators: Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet* 388:1281–1290
- Paul-Ehrlich-Institut (2021) Somatische Zelltherapeutika: AMESANAR – allogene ABCB5-positive mesenchymale Stromazellen. Unter: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/zelltherapeutika/somatische-zelltherapeutika-liste.html>. Zugegriffen am 12.06.2023
- Pellegrini G et al (2018) Navigating market authorization: the path holoclar took to become the first stem cell product approved in the European Union. *Stem Cells Transl Med* 7:146–154
- Rojewski MT et al (2018) Mesenchymale Stromazellen auf dem Weg zur klinischen Anwendung: Update 2018. *Transfusionsmedizin* 8:148–159
- Sengupta V et al (2020) Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19. *Stem Cells Dev* 29:747–754
- Shimomura Y, Christiano AM (2010) Biology and genetics of hair. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 11:109–132
- Talebzadeh AT, Talebzadeh N (2023) Stem cell applications in human hair growth: a literature review. *Cureus* 15:e37439
- Turchiano et al (2021) Quantitative evaluation of chromosomal rearrangements in gene-edited human stem cells by CAST-Seq. *Cell Stem Cell* 28:1136–1147
- Warnecke A et al (2021) First-in-human intracochlear application of human stromal cell-derived extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles* 10:e12094
- Yanez-Mo M et al (2015) Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 4:27066
- Zarghamian P et al (2022) Clinical genome editing to treat sickle cell disease-A brief update. In: *Front Med* 9:1065377

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Spotlight: Ungeprüfte Stammzelltherapien

15

Martin Zenke

15.1 Einleitung

Ungeprüfte Stammzelltherapien sind stammzellbasierte Therapien, die nicht im Rahmen klinischer Studien auf ihre Sicherheit und Wirksamkeit für die Behandlung einer bestimmten Erkrankung geprüft wurden und als Therapie daher keine behördliche Zulassung haben (Besser et al. 2018). Medikamente und auch zellbasierte Therapien müssen normalerweise aufwendige Prüfungs- und Zulassungsverfahren durchlaufen, bevor sie als Medikamente und/oder medizinische Therapien in der Klinik zugelassen werden (siehe Müller-Terpitz, Kap. 17). Dies ist bei ungeprüften Stammzelltherapieangeboten nicht der Fall. Ungeprüfte Stammzelltherapieangebote berufen sich zumeist plakativ auf das regenerative Potenzial von Stammzellen und werden kommerziell für eine breite Palette von oft unheilbaren Erkrankungen über das Internet angeboten. Die Behandlung kann ambulant oder stationär erfolgen und körpereigene (autologe) Zellen oder Spenderzellen, d. h. nicht vom Empfänger selbst stammende Zellen, umfassen. Allerdings fehlen oft Details der Behandlungsmethode, die Art der Verabreichung, die Wirkungsweise des Stammzellpräparates und Hinweise auf potenzielle Nebenwirkungen (Berger et al. 2016). Die Aussagen von Patienten und Patientinnen, die die Behandlung positiv beurteilen und sich danach subjektiv besser fühlen, können nicht darüber hinwegtäuschen, dass die Behandlung nicht den Standards einer klinischen Prüfung bzw. einer zugelassenen Therapie genügt. Die Anbieter/-innen von ungeprüften Stammzelltherapien zeigen wenig oder kein Interesse, Details der Behandlung, mögliche negative Auswirkungen und/oder nachfolgende Erkrankungen zu veröffentlichen (Berger et al. 2016) und damit einer wissenschaftlichen Diskussion zugänglich zu machen.

M. Zenke (✉)

Medizinische Klinik IV, Universitätsklinikum Aachen, Aachen, Deutschland
e-mail: martin.zenke@rwth-aachen.de

15.2 Ungeprüfte Stammzelltherapien – ein komplexes und internationales Problem

Die sich aus ungeprüften Stammzelltherapieangeboten ergebende Problematik wird in zunehmendem Maße international und national von Stammzellforschern und -forscherinnen wahrgenommen und diskutiert (Berger et al. 2016; Master et al. 2021; Lyons et al. 2022). Auch sehen sich Stammzellforscher und -forscherinnen mit Anfragen von Patienten und Patientinnen konfrontiert, die eine breite Palette von Erkrankungen betreffen, von schwerwiegenden neurodegenerativen Erkrankungen (Morbus Parkinson) über Blutzuckererkrankung (Diabetes mellitus) sowie Altern und Burn-out bis hin zu verjüngenden kosmetischen Behandlungen. Die meisten Anfragen kommen von Patienten und Patientinnen in schwierigen und häufig verzweifelten Lebenssituationen mit oftmals tragischen Krankengeschichten.

Die Antwort der Stammzellforscher/-innen ist in den meisten Fällen, dass weltweit an neuen stammzellbasierten Therapien intensiv geforscht wird und solche Therapien in präklinischen Modellen und klinischen Studien erprobt werden, es aber derzeit für viele schwerwiegende Erkrankungen keine zugelassene Standardtherapie gibt. Eine Ausnahme ist die Transplantation von blutbildenden (hämatopoetischen) Stammzellen, die z. B. bei der Leukämie, einer Erkrankung der Blutsystems, eine seit vielen Jahren erprobte und zugelassene Therapie ist (siehe Kolb/Fehse, Kap. 11). In ähnlicher Weise werden Bindegewebstammzellen (mesenchymale Stammzellen) in den letzten Jahren in zunehmendem Maße klinisch, z. B. bei Verletzungen des Bindegewebes, eingesetzt (siehe Besser et al., Kap. 14).

Anbieter/-innen von ungeprüften Stammzelltherapien finden sich durchaus auch in Ländern mit sehr guter medizinischer Versorgung und strengen Regularien für stammzellbasierte Medizinprodukte, wie z. B. in Mitteleuropa und den USA, aber vor allen Dingen in Ländern mit weniger strengen medizinischen Prüfungs- und Zulassungsverfahren (Berger et al. 2016; Lyons et al. 2022). Bei den international über das Internet verbreiteten Therapieangeboten wird daher oft der Standort der Klinik in einem Land mit hohem medizinischen Standard angegeben, die Behandlung findet dann aber in einem Land mit weniger hohem medizinischen Standard statt. Nicht selten umfasst das Therapieangebot eine breite Palette von privat zu zahlenden Leistungen und beinhaltet auch die Organisation der Reise, die Bearbeitung eventueller Visaformalitäten und weitere die Stammzelltherapie unterstützende nachfolgende Behandlungen (z. B. Physiotherapie). Dieses als „Stammzelltourismus“ (Lyons et al. 2022) bezeichnete Phänomen ist durch die zuständigen Zulassungsbehörden in Deutschland wegen der sehr unterschiedlichen nationalen Rechtsordnungen nicht in den Griff zu bekommen.

In der Europäischen Union (EU) werden Behandlungen mit adulten körpereigenen Stammzellen als „Arzneimittel für neuartige Therapien“ („Advanced Therapy Medicinal Products“, ATMP) eingestuft, und ihre Genehmigung obliegt in Deutschland dem Paul-Ehrlich-Institut (Langen) gemäß der Verordnung EG Nr. 1394/2007 (ATMP-Verordnung) (siehe auch Scherer/Berger, Kap. 9). Seit 2013 beinhaltet dies u. a. ein klinisches Prüfungs- und Zulassungsverfahren durch die Europäische Arzneimittel-Agentur (European Medicines Agency, EMA, Amsterdam).

Allerdings gibt es Ausnahmeregelungen. (i) Der individuelle Heilversuch („compassionate use“) für schwer erkrankte Patienten und Patientinnen: Hier kann im Einzelfall, über den der/die behandelnde Arzt/Ärztin im Rahmen der Therapiefreiheit im Einvernehmen mit dem Patienten oder der Patientin allein und aus eigener Initiative entscheidet, ein noch nicht zugelassenes ATMP verabreicht werden, auch wenn die Sicherheit und Wirksamkeit der Behandlung für die betreffende Krankheit noch nicht in klinischen Studien erwiesen ist. (ii) Die sog. Krankenhausbefreiung („hospital exemption“): Hier können Hersteller ein ATMP unter bestimmten Bedingungen anbieten: Das ATMP muss individuell für einen Patienten bzw. eine Patientin hergestellt werden; es muss spezifischen Qualitätsstandards genügen, darf aber nicht routinemäßig produziert werden; und die Behandlung muss unter ärztlicher Kontrolle und Verantwortung in einer Einrichtung der Krankenversorgung erfolgen.

Die Intention ist in beiden Fällen, Patienten und Patientinnen in der EU den Zugang zu neuartigen Medizinprodukten zu ermöglichen, obwohl diese noch nicht das übliche Prüfungs- und Zulassungsverfahren für klinische Produkte und/oder Studien durchlaufen haben. Anbieter/-innen dieser Produkte und Behandlungen müssen beachten, dass das Therapieangebot nicht über einen individuellen Heilversuch hinausgeht oder den Anschein einer Routinebehandlung und damit einer nicht genehmigten klinischen Studie erweckt. Oft wird versucht, diesem Eindruck entgegenzuwirken, indem das Stammzellprodukt modifiziert wird, wie z. B. durch spezielle Aufreinigungen und/oder regenerationsfördernde Zusätze oder die Anwendung für mehrere verschiedene Erkrankungen wie z. B. neurodegenerative Erkrankungen und Herzerkrankungen.

Patienten und Patientinnen sollten jedoch kritisch hinterfragen, wie es sein kann, dass ein und dasselbe Produkt (oder ein und dieselbe Behandlung) für sehr verschiedene Erkrankungen angewendet werden kann. Es entspricht unserer Alltagserfahrung, dass ein augenscheinlich identisches weißes Pulver nur deshalb zwei verschiedene Wirkungen (süß bzw. salzig) haben kann, weil es sich um verschiedene Substanzen (Zucker bzw. Salz) handelt. Es ist offensichtlich, dass verschiedene Erkrankungen auch unterschiedliche Behandlungen erfordern, die auf die jeweiligen spezifischen Gegebenheiten der Erkrankung zugeschnitten sein müssen.

15.3 Maßnahmen: Informationen und Aufklärung

Insgesamt lässt sich sagen, dass die rechtlichen Möglichkeiten, gegen Angebote ungeprüfter Stammzelltherapien vorzugehen oder sie zu unterbinden, wegen der komplexen Sachlage und den heterogenen nationalen Rechtslagen sehr begrenzt sind (Master et al. 2021; Lyons et al. 2022) (siehe Müller-Terpitz, Kap. 17). Je nach Beschaffenheit des Stammzellpräparates, der Anwendung und angeblichen Wirkungsweise sowie dem Land, in dem die Behandlung erfolgt, sind klinische Studien, Zulassung und Genehmigung rechtlich für ihre Vermarktung nicht unbedingt erforderlich.

Es muss daher in Zukunft darum gehen, Patienten und Patientinnen über Chancen und Risiken ungeprüfter Stammzelltherapien umfassend zu informieren. Die nationalen und internationalen Fachgesellschaften sind sich ihrer Verantwortung be-

wusst, Patienten und Patientinnen, Ärzte und Ärztinnen in den verschiedenen Einrichtungen der Krankenversorgung, Hausärzte und -ärztinnen und Entscheidungsträger in Politik, Justiz und Gesellschaft umfassend über Fortschritte in der Stammzellforschung zu unterrichten und auf unseriöse Anbieter/-innen von Stammzelltherapien hinzuweisen.

Die Internationale Gesellschaft für Stammzellforschung (International Society for Stem Cell Research, ISSCR),¹ das EuroStemCell-Netzwerk,² das Deutsche Stammzellnetzwerk (German Stem Cell Network, GSCN)³ und das Stammzellnetzwerk.NRW⁴ haben webbasierte Informationsplattformen eingerichtet, über die sich Patienten und Patientinnen, Betroffene und ihre Angehörigen, interessierte Laien und Laiinnen sowie Ärzte und Ärztinnen über klinisch zugelassene (geprüfte) und ungeprüfte Stammzelltherapien informieren können. Diese und weitere Informationsplattformen werden von ausgewiesenen Experten und Expertinnen zum Thema auf dem aktuellen Stand der Entwicklung gehalten und können kostenfrei genutzt werden. Patienten und Patientinnen und Betroffene sollten so in der Lage sein, selbst die Erfolgchancen und Risiken von stammzellbasierten Therapieangeboten beurteilen zu können.

Das Phänomen unseriöser Therapieangebote in der Medizin ist nicht neu, hat aber durch die Vielzahl von neuen Therapiemöglichkeiten und die globalen Kommunikationswege (Internet, Soziale Medien) eine neue Dimension erreicht. Ungeprüfte Stammzelltherapien werden daher weiterhin global angeboten und in Anspruch genommen werden. Es ist zu erwarten, dass mit den Fortschritten in der Stammzellforschung und bei den zurzeit laufenden klinischen Studien zu Zelltherapien die Palette und Zahl der klinisch geprüften und zugelassenen stammzellbasierten Therapien zunehmen wird. Es ist zurzeit aber schwer abzuschätzen, ob dadurch der Markt für ungeprüfte Stammzelltherapien in Zukunft unattraktiv und „austrocknen“ wird. Die Möglichkeiten zur Durchführung einer ungeprüften Stammzelltherapie in Deutschland wird als eher gering eingeschätzt. Die mit Stammzelltherapien befassten Forscher/-innen sind optimistisch, dass neue klinisch geprüfte stammzellbasierte Behandlungen, die sich zurzeit noch in der Entwicklung und Testung befinden, in Zukunft Standardtherapien in der breiten medizinischen Versorgung sein werden.

¹ Siehe unter: <https://www.isscr.org> bzw. <https://www.isscr.org/patients> [01.07.2023].

² Siehe unter: <https://www.eurostemcell.org/de> bzw. <https://www.eurostemcell.org/de/welche-krankheiten-koennen-mit-stammzellen-behandelt-werden> [01.07.2023].

³ Siehe unter: <https://www.gscn.org> bzw. <https://de.gscn.org/de/ZUSTAMMZELLEN/Patienteninformationen.aspx> [01.07.2023].

⁴ Siehe unter: <https://www.stammzellen.nrw.de> bzw. <https://www.stammzellen.nrw.de/informieren/patienteninformation> [01.07.2023].

Literatur

- Berger I et al (2016) Global distribution of businesses marketing stem cell-based interventions. *Cell Stem Cell* 19:158–162
- Besser D et al (2018) Ungeprüfte Stammzelltherapieangebote. In: Zenke M et al (Hrsg) Stammzellforschung. Nomos, Baden-Baden, S 139–152
- Lyons S et al (2022) International stem cell tourism: a critical literature review and evidence-based recommendations. *Int Health* 14:132–141
- Master Z et al (2021) Unproven stem cell intervention: a global public health problem requiring global deliberation. *Stem Cell Rep* 16:1435–1445

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Gentherapie aus der Sicht eines forschenden Arzneimittelunternehmens

16

André Cohnen, Laura Hoffmeister und Anke M. Schulte

16.1 Bisherige Therapieformen (z. B. SMOL und BMOL) im Vergleich zu Zell- und Gentherapie: Ein kurzer Überblick

Ihren Ursprung nahm die moderne Pharmaindustrie in Apotheken, die in der Mitte des 19. Jahrhunderts begannen, ihre Produkte im industriellen Maßstab herzustellen und zu verkaufen. Zu Beginn lag der überwiegende Fokus der Industrie stark auf kleinen Molekülen (kurz SMOLs, „small molecules“), klassische pharmazeutisch aktive Chemikalien. In Kombination mit Hochdurchsatzscreeningverfahren ließen sich aktive SMOLs für viele Krankheiten identifizieren, die dann im industriellen Maßstab produziert wurden. In ihrer Wirkungsweise sind SMOLs meist symptomatisch, das heißt sie sind in der Lage, Symptome von Krankheiten zu behandeln. Die zugrundeliegenden Ursachen der Erkrankung können jedoch in den überwiegenden Fällen nicht behandelt werden. Seit etwa den 1990er-Jahren ist eine weitere Klasse von Wirkstoffen, die großen Moleküle, hinzugekommen, die auch Biologika (Proteine, Peptide, Antikörper, kurz BMOLs, „biological molecules“) genannt werden. Im Gegensatz zu SMOLs lassen sich für BMOLs erweiterte therapeutische Ansätze verfolgen. Ähnlich wie SMOLs können auch BMOLs weitestgehend ausschließlich symptomatisch angewendet werden.

A. Cohnen (✉)

Bayer AG – Genomic Medicine Unit, Wuppertal, Deutschland

e-mail: andre.cohnen@bayer.com

L. Hoffmeister

Bayer AG – Corporate R&D and Science Engagement Unit, Leverkusen, Deutschland

A. M. Schulte

Bayer AG – Pharmaceuticals, Cell & Gene Therapy (CGT) Unit, Berlin, Deutschland

© Der/die Autor(en) 2024

B. Fehse et al. (Hrsg.), *Gen- und Zelltherapie 2.023 – Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-67908-1_16

239

Seit etwa den 2000er-Jahren beschäftigt sich das akademische sowie industrielle Umfeld zunehmend intensiver mit Zell- und Gentherapien, die häufig auch als Arzneimittel für neuartige Therapien („Advanced Therapy Medicinal Product“, ATMP) bezeichnet werden. In Abgrenzung zu den BMOLs und SMOLs handelt es sich hierbei um komplexere Therapien mit dem Potenzial, die Behandlungsoptionen von Krankheiten zu erweitern. Bei der Zelltherapie (ZT) werden dem Patienten/der Patientin lebende therapeutische Zellen zugeführt. Bei der Gentherapie (GT) kommt genetisches Material zur therapeutischen Anwendung. Im Unterschied zu klassischen Therapieformen (SMOLs, BMOLs) besteht bei Zell- und Gentherapie (ZGT) die Möglichkeit, Krankheiten ursächlich zu behandeln und damit den weiteren Verlauf der Krankheit zu revidieren, zu stoppen oder möglicherweise ihre Entstehung zu verhindern (European Medicines Agency 2010; European Medicines Agency 2023a; Regulation (EC) 1394/2007).

16.2 Zelltherapie (ZT): kurzer Überblick

Bei ZT werden therapeutische Ergebnisse durch die Verabreichung lebender Zellprodukte herbeigeführt. Konkret bedeutet das, dass körpereigene, sog. somatische Zellen¹ entweder von dem Patienten/der Patientin² oder von Spendern/Spenderinnen³ isoliert und nach Modifikation und eventueller Anwendung von Gen- oder RNA-Therapien dem Patienten/der Patientin als Behandlung verabreicht werden. In einer besonderen Form der ZT können somatische Zellen in pluripotente Stammzellen umprogrammiert werden (induzierte pluripotente Stammzellen, iPSC), um diese im Anschluss dann *in vitro* (lateinisch ‚im Glas‘) gezielt zu bestimmten Zelltypen zu differenzieren und die Patientin/den Patienten mit den neu erhaltenen Zellen zu therapieren. iPSC, ebenso wie embryonale Stammzellen (ESC), können sich unbegrenzt vermehren und in alle Zelltypen im Körper differenzieren, was sie zum idealen Ausgangsmaterial für die Entwicklung einer Reihe von ZT macht. Ein Vorteil der allogenen gegenüber der autologen iPSC-Technologie stellt hierbei die unlimitierte Verfügbarkeit von Ausgangsmaterial für die Herstellung von therapeutischen Zellen für viele Patientinnen und Patienten dar (Takahashi et al. 2007; Yamanaka 2020; Ilic und Ogilvie 2022). Unabhängig vom Ursprung der Zellen (autologe, allogene, genetisch oder nicht genetisch modifiziert) werden diese pharmazeutisch in Folgeschritten so programmiert, dass sie einen gewünschten Effekt nach Einbringung in den Körper des Patienten/der Patientin ausführen können. Handelt es sich dabei um eine Krebstherapie, so könnten in diesem Fall beispielhaft bestimmte Immunzellen (i. d. R. T-Zellen) des Patienten gezielt isoliert und dann mit einem Protein (z. B. einem chimären Antigenrezeptor, CAR) ausgestattet werden, das ihnen die Möglichkeit vermittelt, gezielt Krebszellen zu erkennen und zu zerstören, indem sie tumorassoziierte Antigene

¹Somatisch von griechisch soma: Körper.

²Autologe ZT von griechisch auto-: selbst.

³Allogene ZT von griechisch allo-: fremd.

identifizieren. Diese, auch als CAR-T-Zelltherapien bekannte Interventionen sind bereits Realität und in klinischer Anwendung (siehe Harrer/Abken, Kap. 10). Beispiele für die Anwendung von differenzierten Zellen ausgehend von iPSC sind z. B. die Herstellung von insulinproduzierenden Zellstrukturen für die Behandlung von Typ-1-Diabetikern, um Blutzuckerregulierung zu etablieren, oder die Herstellung von bestimmten neuronalen Zelltypen für die Behandlung von Parkinsonpatientinnen und -patienten, um den weiteren Krankheitsverlauf zu verzögern oder sogar zu stoppen. Beide ZT sind in der klinischen Entwicklung (Parmar et al. 2020; Borges Silva et al. 2022; Chen et al. 2023). Für weitere Information zum Thema ZT verweisen wir auf andere Kapitel dieses Themenbandes (Zimmermann et al., Kap. 13; Besser et al., Kap. 14).

16.3 Gentherapie (GT)

Im Gegensatz zur ZT wird bei der GT genetisches Material zur Behandlung von Krankheiten eingesetzt. Da hierbei die Krankheit am Ort ihrer Ursache adressiert wird, können GT den Krankheitsverlauf entscheidend verändern. Gleichzeitig muss klargestellt werden, dass sich nicht alle Krankheiten mittels einer GT behandeln lassen. Erstens liegt nicht bei jeder Krankheit eine bekannte genetische Ursache vor und weiterhin sind einige genetische Ursachen von Krankheiten so komplex, dass sich keine heute realisierbare GT zur Behandlung der Erkrankung anbietet. Umgekehrt gibt es eine beträchtliche Zahl von Erkrankungen, die mit herkömmlichen Therapieformen (SMOLs, BMOLs) nicht, oder nur unzureichend, behandelbar sind und die GT bietet hier eine neue Möglichkeit der medizinischen Intervention (Bulaklak und Gersbach 2020).

GT stellen damit eine ausgezeichnete Ergänzung zum klassischen Portfolio eines Pharmaunternehmens dar und ermöglichen das Behandeln von Erkrankungen, die mit bisher verfügbaren Therapieansätzen nicht adressierbar sind.

Ein entscheidender Faktor bei der GT stellt der Prozess dar, mit dem das therapeutische genetische Material zum gewünschten Gewebe im Körper geliefert wird (Delivery). In vielen Fällen bedient man sich dazu der Hilfe modifizierter Viren (virale Vektoren) die genetisch so verändert wurden, dass sie klinisch mit minimiertem Risiko angewendet werden können. Im Körper erfüllen die viralen Vektoren nach Gabe die Aufgabe eines Kuriers und liefern das therapeutisch genetische Material (meist DNA) an bestimmte Gewebe. Die Adressierbarkeit von verschiedenen Gewebetypen wird hierbei bestimmt und begrenzt durch die Auswahl und Verfügbarkeit eines bestimmten viralen Vektortyps (Tropismus). Es ist ein Feld intensiver Forschung, das Adressierbarkeitsspektrum durch die Identifizierung von neuen viralen Vektortypen zu erweitern (Wang et al. 2019; Ferrari 2021). Abb. 16.1 zeigt eine schematische Darstellung zur Unterscheidung von ZGT.

Wir grenzen in diesem Kapitel GT von ZT wie folgt ab: Bei der ZT erfolgt die therapeutische Behandlung mit einem Zellprodukt. Diese Zellen können auf unterschiedlichste Weise im Labor erzeugt und vor dem Einbringen genetisch oder nicht

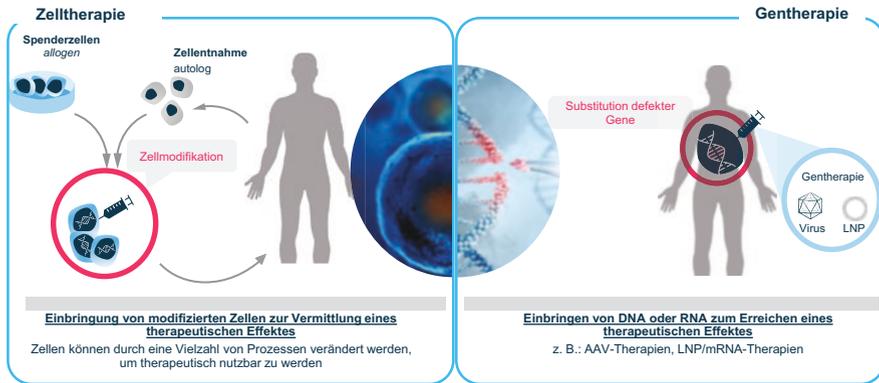


Abb. 16.1 Schematische Darstellung zur Unterscheidung von Zell- und Gentherapien. Bei Gentherapien in der Definition dieses Kapitels erfolgt der therapeutische Einsatz in Patientinnen/Patienten

genetisch verändert worden sein. Als GT definieren wir Technologien, bei denen genetische Sequenzen (DNA oder RNA) direkt in Patientinnen/Patienten (in vivo) zum therapeutischen Einsatz kommen. Dies kann wie oben erörtert durch eine Vielzahl von viralen und nichtviralen Vektoren erfolgen.

16.4 Die Grenzen der Gentherapie

Das Prinzip der GT beruht auf der Einbringung von genetischer Information. Wird diese genetische Information z. B. mithilfe von Adeno-assoziierten Viren (AAV) oder Integrations-Defizienten-Lentiviren (IDLV) in die Zellen eingebracht, verbleibt diese normalerweise überwiegend im Zellkern extrachromosomal (episomal) positioniert, also außerhalb des Genoms des Organismus. Die mithilfe solcher (episomaler) Vektoren in den Patienten/die Patientin eingebrachte genetische Information kann auf Dauer inaktiviert oder verloren gehen. Letzteres trifft insbesondere zu, wenn sich die infizierten Zellen des behandelten Organs aktiv teilen, z. B. wenn das Organ wächst oder regeneriert (Leber). Bei diesen Zellteilungen werden die episomalen Vektoren nicht mit vervielfältigt, sodass der von ihnen zu vermittelnde therapeutische Effekt sich in den Organen über die Zeit reduziert und sich darüber die Wirksamkeit der Behandlung über die Zeit vermindert (Apolonia 2020; Pupo et al. 2022).

Andere virale GT-Ansätze verwenden Kurier, die sich nach Infektion der Zelle stabil in das Genom der Zelle integrieren wie z. B. Lentivirale Vektoren (LV). Da diese LV nach Integration Teil des Genoms werden, werden die übermittelten für den therapeutischen Effekt eingebrachten Gensequenzen zusammen mit der zellulären DNA vervielfältigt. Ein Verlust der eingebrachten genetischen Information in sich aktiv teilenden Zellen ist somit abgewendet. Eine über längere Zeiträume sta-

bile Expression der therapeutischen Gensequenz wird somit prinzipiell möglich, auch wenn die Möglichkeit einer Inaktivierung über die Zeit weiterhin besteht. Da die Integration der viralen Vektoren in das Genom der Zelle jedoch weitestgehend zufällig erfolgt, stellen solche Therapien ebenfalls gewisse Risiken dar, insbesondere, wenn kritische Gene wie Onkogene oder Tumorsuppressorgene bei der Integration dereguliert oder inaktiviert werden. Diese Risiken müssen präklinisch und klinisch sorgfältig untersucht werden (Cavazzana et al. 2019; Poletti und Mavilio 2021; Li et al. 2002; Kustikova et al. 2005; Baum et al. 2006; Modlich et al. 2006).

16.5 RNA-Therapien und Geneditierung

Eine andere Methode zur Einbringung von genetischer Information als Therapieform, die insbesondere durch die COVID-19-Pandemie große Beachtung fand, ist die Gabe von mRNA mithilfe der Lipidnanopartikel(LNP)-Technologie.⁴ Sie dient hierbei als Kurier für die einzubringende genetische Information, die in diesem Fall Ribonukleinsäure (RNA)⁵ und nicht DNA darstellt. Im Fall der COVID-19-mRNA-basierten Vakzine wurden LNP mit mRNA, die für Anteile des SARS-CoV-2-Spike-Proteins codieren, beladen. In Muskelgewebe injiziert wird das Protein gebildet, um die körpereigenen Immunzellen zur Erkennung von SARS-CoV-2-Viren zu trainieren. Für einen nicht impfstoffbasierten Ansatz dieser neuen Technologie ist in vielen Fällen die Gabe von LNP-/RNA-Vesikeln ins Blut (systemische Gabe) und eine darauffolgende Zustellung in bestimmte Organzellen wie z. B. der Leber von Interesse. Viele Gruppen im akademischen sowie industriellen Umfeld arbeiten daran, die Gewebespezifität von LNP-Formulierungen zu erweitern. Die Zustellung von RNA in die Leber mit bestimmten LNPs als Kurier ist eine etablierte Methode und in der klinischen Anwendung. Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal der LNP-/RNA-Methode zum Einbringen von genetischer Information gegenüber der von viralen Vektoren ist die kurze Verweilzeit der RNA in unseren Zellen. RNA ist im Gegensatz zu DNA kurzlebig und integriert sich nicht in das Genom der Zelle. Das Anwendungsspektrum und Behandlungsziel für die LNP-/RNA-Methode unterscheidet sich somit grundlegend von der GT mit viralen Vektoren. Geneditierung (GE) ist ein Beispiel für diese Anwendung, da insbesondere hier die zeitlich begrenzte Verfügbarkeit der RNA von Interesse ist. Kombinationen von viralen und nichtviralen Vektortechnologien sind ebenfalls möglich.

Unter dem Begriff „Geneditierung“ (siehe Fehse et al., Kap. 7) versteht man die zielgerichtete Veränderung von DNA einer Zelle durch die Verwendung von unter-

⁴Bei Lipidnanopartikeln handelt es sich um lipidbasierte Vesikel mit einem mittleren Durchmesser von 10 bis 1.000 Nanometern. Sie werden zur Verabreichung von Antigen in auf rekombinanten Proteinen und nukleinsäurebasierten Impfstoffen eingesetzt.

⁵Siehe auch: Fehse et al. 2022.

schiedlichen molekularbiologischen Methoden. Im Gegensatz zur oben beschriebenen GT, also dem Einbringen von therapeutischen Gensequenzen, können bei der GE funktionsgestörte Gene, die eine spezifische Erkrankung hervorrufen, im Genom selbst repariert, inaktiviert oder komplementiert werden. In diesem Kapitel beschränken wir uns auf die therapeutische GE. Allen Methoden der GE ist gemeinsam, dass die verwendete Technologie zunächst die zu editierenden Bereiche in der DNA finden muss, bevor diese verändert werden können. Die Technologien unterscheiden sich grundsätzlich darin, wie dieses Auffinden von genetischen Bereichen erbracht wird. Bei „älteren“ Technologien wie z. B. den Zinkfinger-nukleasen (ZFN) und den TAL-Effektor-Nukleasen („transcription activator-like effector nuclease“, TALEN) findet das Erkennen von genetischen Sequenzen über Protein-DNA Wechselwirkungen statt. Dies hat zur Folge, dass für jeden neu zu erkennenden genetischen Bereich eine eigene ZFN oder TALEN entwickelt werden muss. Bei der neueren CRISPR („Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats“)-GE-Technologie findet die DNA-Erkennung des zu adressierenden genetischen Bereichs durch eine Wechselwirkung mit einem kurzen, komplementären RNA-Molekül statt. Die Sequenz der RNA beschreibt über seine komplementäre Bindung die zu erkennende DNA-Sequenz, während das verwendete Protein konstant bleiben kann. Zur Reprogrammierung des CRISPR-Komplexes ist somit lediglich ein Austausch der kurzen komplementären RNA nötig, was die Anwendung von CRISPR im Vergleich zu früheren Methoden sehr viel einfacher, flexibler und kostengünstiger gestaltet. Die CRISPR-Technologie hat das Feld der GE revolutioniert und seinen Anwendungsbereich massiv erweitert. Innerhalb von Wochen anstatt Monaten und Jahren können nun verschiedenste GE-Ansätze auf ihre Wirksamkeit hin in Tiefe untersucht werden, was den Auswahlprozess für die therapeutische Anwendung erleichtert (Jinek et al. 2012; Van der Oost und Patinios 2023; Wang und Doudna 2023). Generell ermöglichen GE-Methoden (z. B. Gene-Editing, Base-Editing, Prime-Editing), Mutationen oder Gendefekte in ihrer Auswirkung zu korrigieren und schaffen darüber die Möglichkeit, auf einen Krankheitsverlauf Einfluss zu nehmen.⁶ Im Vergleich zur „klassischen“ GT können hier gewünschte Veränderungen gerichtet in der genomischen DNA von Zellen vorgenommen werden. Die durchgeführten Änderungen bleiben somit in der Zelle enthalten, selbst wenn sie Teil eines wachsenden oder sich regenerierenden Organs sind. Wie auch bei der GT sind insbesondere bei der GE verschiedenste sicherheitstechnische Aspekte zu beachten und in präklinischen sowie klinischen Studien im Detail zu untersuchen: Aufgrund der direkten und verbleibenden Veränderung des Genoms zur Erreichung des therapeutischen Nutzen ist die Auswahl der zu adressierenden Krankheit mittels dieser Methode nach einer sorgfältigen Risiko-Nutzen-Abschätzung vorzunehmen (Human Gene Therapy Products Incorporating Human Genome Editing/Draft Guidance for Industry 2022; Cullis und Hope 2017; Xie et al. 2021; Mendonça et al. 2023).

⁶Siehe auch: Fehse und Abramowski-Mock 2021.

16.6 Sicherheit in der Gentherapie: Kriterien zur Auswahl von Therapieansätzen

Da es sich bei GT um komplexe und neuartige Therapieformen handelt, stellt sich die wichtige Frage nach ihrer sicheren Anwendung. Aus Sicht eines pharmazeutischen Unternehmens ist die Sicherheit des Patienten/der Patientin bei der Anwendung oberstes Gebot. Gleichzeitig treten auch bei klassischen Therapien Nebenwirkungen auf, die es zu verstehen und zu vermeiden gilt. GT und GE stellen somit keine Ausnahme dar. Neu ist vor allem die Komplexität der Therapien sowie die Schwierigkeit, die Therapie bei behandelten Patientinnen und Patienten bei Bedarf abzusetzen. Durch ihre Wirkungsweise und Biologie sind viele GT-Behandlungen wie z. B. mit viralen Vektoren oder nach GE nach einmaliger Verabreichung lange (mehrere Jahre) oder bis zu lebenslang wirksam. Neben dem gewünschten hohen Wirkungsgrad der Behandlung (Einmalgabe mit langer Wirkung) rückt dies natürlich insbesondere das Verständnis für die Sicherheit dieser Therapien in ein besonderes Licht. Im Mittelpunkt steht hier stets der Nutzen für den Patienten/die Patientin, der mit dem Risiko der Therapie abgeglichen werden muss.

Der Nutzen einer Therapie lässt sich vielfach bestimmen und geht oft über den primären therapeutischen Erfolg hinaus. So ermöglicht eine erfolgreiche Therapie dem Patienten/der Patientin beispielsweise, wieder aktiver am sozialen und Arbeitsleben teilzuhaben, und entlastet Angehörige emotional wie sozial. Eine ausführliche Diskussion würde jedoch über den Rahmen dieses Kapitel hinausgehen. Das Risiko wiederum lässt sich in sorgfältig geplanten klinischen Studien abschätzen (European Medicines Agency 2023b).

Gemeinsam erlaubt die Nutzen-Risiko-Abschätzung eine Entscheidung über die Sicherheit einer Therapie, die auch von der Schwere der Krankheit abhängig ist. So sind bei einer besonders schweren Krankheit ohne bestehende Therapieoptionen mehr Risiken akzeptierbar als bei einer Krankheit mit einem milderen Verlauf. In allen Fällen stehen selbstverständlich das Interesse und die Sicherheit des Patienten/der Patientin immer im Vordergrund.

16.7 Einstiegsstrategien für Pharmaunternehmen bei der Entwicklung neuartiger Therapien

Wie bei allen Technologien stellt sich auch bei Zell-, Gen-, und RNA-Therapie für ein pharmazeutisches Unternehmen die Frage, ob, wie und zu welchem Zeitpunkt man sich in die neuen Entwicklungen einbringen möchte. Selbstverständlich hängt die Antwort auf diese Frage sehr von der jeweiligen Unternehmensstrategie ab und lässt sich nicht allgemeingültig beantworten. Im Folgenden können wir also lediglich einige Denkanstöße präsentieren, die in die jeweilige Entscheidung mit einfließen könnten.

Ein früher Einstieg in eine neue Technologie birgt immer auch das Risiko, in einen Bereich zu investieren, der nicht zukunftssträftig ist. In vielen Fällen lässt sich dies jedoch erst zu einem späteren Zeitpunkt absehen. Bewegt sich die Firma

zu zögerlich in eine neue Technologieform, kann das Feld bereits so differenziert sein, dass ein Einstieg entweder nicht mehr attraktiv oder mit erheblichen finanziellen Mitteln verbunden ist. Abhängig von der Firma und den finanziellen Mitteln kann dies jedoch eine erfolgsversprechende Strategie sein, da auf diese Weise sichergestellt wird, dass die Investition erst nach Validierung der jeweiligen Technologie erfolgt. Dieser sog. späte Einstieg in validierte Technologien geht jedoch i. d. R. mit einem hohen Investitionsbedarf einher.

Erfolgt die Investition sehr früh, benötigt die Firma zudem das nötige Durchhaltevermögen, um die frühe Entwicklung der Technologie durch Erfolge und Misserfolge aktiv voranzutreiben. Das kann vielfach zum sprunghaften Ausstieg aus Technologien führen, wenn die Firma gleichzeitig finanzielle Mittel für die Entwicklung anderer Therapieformen benötigt. Eine frühe und aktive Teilhabe sorgt jedoch i. d. R. für den internen Aufbau differenzierten Wissens innerhalb der Firma und gewährt damit, ein ausgewogenes Patentportfolio zu erarbeiten. Dies wiederum sollte es der Firma im Fall des Erfolges der Technologie ermöglichen, das Feld entscheidend zu formen.

Ein Mittelweg stellt in diesem Fall eine begrenzte und auf lange Sicht ausgerichtete interne Investition dar, die mit externen Investitionen in Biotechnologieunternehmen und Partnerschaften balanciert wird. In diesem Fall kann die Firma kurzfristig und schnell in ein Feld einsteigen und gleichzeitig mittel- bis langfristig die zusätzlichen Investitionen limitieren, da interne Aktivitäten den Bedarf an zusätzlichen größeren externen Investitionen minimieren. Im Zell-, RNA- und GT-Bereich lassen sich all diese und weitere Firmenstrategien beobachten (Schuhmacher et al. 2021, 2022).

16.8 Zugelassene In-vivo-Gentherapien und Ausblick

Im Jahr 2012 wurde mit Glybera® in der Europäischen Union (EU) die erste GT zugelassen. Glybera® behandelt die äußerst seltene Erbkrankheit Lipoprotein-Lipase-Defizienz, bei der eine Genmutation den Abbau von Fettmolekülen aus dem Blut verhindert. Mithilfe von AAV-Vektoren wird bei Glybera® durch Einmalgabe das fehlende Enzym substituiert. Aufgrund der Seltenheit dieser Erbkrankheit wurde das Medikament allerdings nach fünf Jahren vom Anbieter wieder vom Markt genommen. Heutzutage haben acht In-vivo-Gentherapien die Marktzulassung in der EU (durch die EMA) und/oder in den USA (durch die FDA) erhalten, vier davon allein im Jahr 2022, was zusammen mit der Anzahl der klinischen Kandidaten die Zunahme dieser Therapieformen unterstreicht. Die gewählte Modalität zum Einbringen der genetischen Information sind in den meisten Fällen AAV-Vektoren (siehe Tab. 16.1).

Zwei der zugelassenen In-vivo-Gentherapien adressieren Tumorerkrankungen. Bei Adstiladrin® handelt es sich um eine nicht replizierende Adenovirus-Vektorbasierte GT mit dem Gen *Interferon alfa-2b*. Das Ziel ist hier, eine Verbesserung der natürlichen Abwehrkräfte des Körpers zur Bekämpfung eines bestimmten Blasenkrebses zu erreichen. Bei Imlygic® handelt es sich um ein abgeschwächtes Herpes-

Tab. 16.1 Zugelassene In-vivo-Gentherapien in der EU und den USA (Januar 2023)

Marken-name	Name	Erkrankung	Modalität	Jahr der Zulassung (EMA/FDA)	Unternehmen
Glybera®	Alipogene tiparvovec	LPLD	AAV-Vektor	EMA 2012	UniQure
Luxturna®	Voretigene neparvovec	LCA, RP	AAV-Vektor	FDA 2017/ EMA 2018	Sparks Therapeutics
Zolgensma®	Onasemnogene abeparvovec	SMA	AAV-Vektor	FDA 2019/ EMA 2020	Novartis
Roctavian®	Valoctocogen roxaparvovec	Hämophilie A	AAV-Vektor	EMA 2022	BioMarin
Upstaza®	Eladocagene exuparvovec	AADC-Mangel	AAV-Vektor	EMA 2022	PTC Therapeutics
Imlygic®	Talimogen laherparepvec	Melanoma	HSV-Vektor	EMA 2015/ FDA 2021	Amgen
Adstiladrin®	Nadofaragene firadenovec	NMIBC	Ad-Vektor	FDA 2022	Merck & CO
Hemgenix®	Etranacogene dezaparvovec	Hämophilie B	AAV-Vektor	FDA 2022/ EMA 2023	CSL Behring/ UniQure

Abkürzungen: AAV: Adeno-assoziiertes Virus, Ad: Adenovirus, AADC: Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase, LPLD: Lipoprotein-Lipase-Mangel, LCA: Lebersche kongenitale Amaurose, MLD: metachromatische Leukodystrophie, NMIBC: nichtmuskelinvasiver Blasenkrebs, RP: Retinitis pigmentosa, SMA: Spinale Muskelatrophie, HSV: Herpes-simplex-Virus.

simplex-Virus Typ 1, das Tumorzellen zerstört und das Immunsystem unterstützt, Tumorzellen im ganzen Körper zu bekämpfen (onkolytische Immuntherapie).

Bei den übrigen sechs zugelassenen GT wird mithilfe von AAV-Vektoren die Wirkung von Genmutanten durch das Einbringen normaler Gensequenzen abgeschwächt bzw. korrigiert. Luxturna® ist eine Therapie zur Behandlung von zwei seltenen erblichen Formen des Sehverlustes, die durch mutierte Formen des Gens *RPE65* ausgelöst werden (Retinitis pigmentosa, Lebersche kongenitale Amaurose). Im Fall von Luxturna® wird eine korrekte Form des *RPE65*-Gens in die Zellen des retinalen Pigmentepithels eingefügt, um den Verfall des Gewebes zu stoppen und die Sehfähigkeit bei frühkindlicher Erblindung zu verbessern. Zolgensma® ist eine GT zur Behandlung einer infantilen spinalen Muskelatrophie (SMA), die durch ein mutiertes *SMN1*-Gen ausgelöst wird. SMA ist eine schwere motoneurale Erkrankung, bei der die betroffenen Nervenzellen Signale nicht korrekt weitergeben, was zu schweren motorischen Lähmungen bis hin zum Tod durch Ateminsuffizienz führen kann. Mit Zolgensma® wird eine korrekte Form des *SMN1*-Gens verabreicht und in Folge in den betroffenen Motoneuronen hergestellt, um den Krankheitsverlauf zu stoppen. Zolgensma® wird als Einmalgabe in den Blutkreislauf injiziert. Bei Roctavian® handelt es sich um eine Therapie zur Behandlung von Hämophilie A. Hämophilie A wird durch einen defekten Gerinnungsfaktor (Faktor VIII) ausgelöst, was abhängig von der Schwere der Krankheitsform zu verstärkten bis sehr starken und anhaltenden Blutungen führt. Im Fall von Roctavian® wird eine korrekte Form des Faktor-VIII-Gens mittels eines AAV-Vektors in die Leber geschleust,

wo es von Leberzellen produziert und ins Blut abgegeben wird, um den Krankheitsverlauf zu stoppen. Upstaza® wird zur Behandlung von AADC-Defizienz, einer sehr seltenen Erkrankung, die u. a. die Muskel- und Nervenentwicklung betrifft, eingesetzt. Upstaza® wird intraputaminale (in das Putamen, einen Bereich des Gehirns) verabreicht. Dort wird in der Folge eine korrekte Form des defekten DDC-Gens hergestellt. Bei Hemgenix® handelt es sich um eine GT zur Behandlung von Faktor-IX-abhängiger Hämophilie (Hämophilie B). Analog zu Roctavian® wird bei Hemgenix® eine korrekte Form des Faktor-IX-Gens in die Leber überführt, um den Krankheitsverlauf zu stoppen.

Im Jahr 2022 nahm die Pipeline an Gen-, Zell- und RNA-Therapien von der Präklinik bis zur Vorregistrierung um 7 % zu, was die Gesamtanzahl der Therapien in der Entwicklung heute auf 3.726 Projekte bringt, und u. a. deutlich macht, um was für einen rasant wachsenden Markt es sich hier handelt. Von den 3.726 Entwicklungsprojekten sind mehr als die Hälfte ($n = 2.053$, 55 %) GT einschließlich genetisch bedingter modifizierter Ex-vivo-Therapien (z. B. CAR-T-Zelltherapien), die ca. 75 % ausmachen. RNA-Therapien stellen 23 % und nicht genetisch veränderte ZT 22 % dar. Die GT-Pipeline wuchs im Jahr 2022 um 6 %, und seltene Krankheiten und Onkologie sind nach wie vor die Topentwicklungsbereiche und -produkte in der Klinik. Längerfristig ist durch die Technologieerfahrung aber zu erwarten, dass auch komplexere und chronische Krankheiten mehr adressierbar werden. Den größten Anstieg an Entwicklungsprojekten verzeichnete 2022 die RNA-Therapie-Pipeline, die um 17 % wuchs. Zugelassen sind bisher 20 Produkte (ASGCT Q4 2022) (siehe Fehse, Kap. 2).

16.9 Ethische Aspekte aus Sicht eines Pharmaunternehmens

Die Geschwindigkeit, mit der die Wissenschaft voranschreitet, und die Möglichkeiten, neue Technologien zu schaffen, werfen jedoch auch komplexe ethische Fragen auf. GT wie GE oder Genaddition verändern unser Verständnis der menschlichen Gesundheit und eröffnen neue Lösungen, die wir nie für möglich gehalten hätten. Sie haben das Potenzial, Patientinnen und Patienten, die an Krankheiten genetischer Ursache leiden, einen enormen Nutzen zu bringen.

Forschende Pharmaunternehmen sind sich der damit verbundenen sozialen Verantwortung bewusst und betreiben Innovation innerhalb von gesetzlichen und regulatorischen Rahmen sowie internationalen und nationalen Konventionen. Darüber hinaus definiert man sich in der Branche mit unternehmensweiten Richtlinien an allgemeingültigen ethischen Standards und Prinzipien, die entsprechend dem wissenschaftlichen Fortschritt und im Austausch mit externen Experten kontinuierlich weiterentwickelt werden.

Die Entwicklung von ZGT bedarf für jeden Anwendungsfall einer gründlichen Bewertung der ethischen Auswirkungen auf den Menschen und die Umwelt. Alle Risiken und Vorteile therapeutischer Anwendungen werden sorgfältig geprüft, besonders darauf, dass der gewünschte Nutzen überwiegt und die mit der Behandlungsmethode verbundenen Risiken verstanden werden.

Ein aktiver Dialog mit einer Vielzahl von Interessengruppen ist zudem eine wichtige Grundlage, um das Vertrauen in die neuen wissenschaftlichen Methoden zu erhöhen. Aus der Sicht des forschenden Pharmaunternehmens Bayer ist es essenziell, Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten im Bereich ZGT transparent und in einfacher Sprache darzustellen, um Vertrauen in die Wissenschaft und Innovation zu stärken. Ebenso wichtig ist es, die jetzigen wissenschaftlichen Grenzen aufzuzeigen, um eine Diskussion auf Grundlage des Möglichen zu führen. Ein verantwortungsvoller Umgang mit neuen Behandlungsmethoden beinhaltet ebenso eine klare Positionierung zu den Grenzen ihrer Anwendung. Zum Beispiel bekennen wir uns eindeutig dazu, keine Modifikationen des menschlichen Genoms mit der Absicht durchzuführen, sie an künftige Generationen beim Menschen weiterzugeben. Wir führen keine menschliche Keimbahnbearbeitung durch und werden dies auch nicht tun und unterstützen die Empfehlungen der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus dem Jahr 2015 und den Ethikbericht aus dem Jahr 2020, um einen verantwortungsvollen Weg nach vorn zu definieren (National Academy of Medicine et al. 2020).

Literatur

- Apolonia L (2020) The old and the new: prospects for non-integrating lentiviral vector technology. *Viruses* 12:1103
- ASGCT Q4 (2022) Quarterly Data Report: gene, cell and RNA therapy landscape. Unter: <https://pharmaintelligence.informa.com/asgct-report>. Zugegriffen am 08.03.2023
- Baum C et al (2006) Mutagenesis and oncogenesis by chromosomal insertion of gene transfer vectors. *Human Gene Therapy* 17:253–263
- Borges Silva IBB et al (2022) Stem cells differentiation into insulin-producing cells (IPCs): recent advances and current challenges. *Stem Cell Res Ther* 13(1):309
- Bulaklak K, Gersbach CA (2020) The once and future gene therapy. *Nat Commun* 11:5820
- Cavazzana M et al (2019) Gene therapy targeting haematopoietic stem cells for inherited diseases: progress and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 18(6):447–462
- Chen YJ et al (2023) CAR-T: what is next? *Cancers* 15(3):663
- Cullis PR, Hope MJ (2017) Lipid nanoparticle systems for enabling gene therapies. *Mol Ther* 25:1467–1475
- European Medicines Agency (2010) Reflection paper on classification of advanced therapy medicinal products. Unter: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-classification-advanced-therapy-medicinal-products_en-0.pdf. Zugegriffen am 08.03.2023
- European Medicines Agency (2023a) Advanced therapy medicinal products: Overview. Unter: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/advanced-therapy-medicinal-products-overview> [08.03.2023]
- European Medicines Agency (2023b) Guidelines relevant for advanced therapy medicinal products. Unter: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/advanced-therapies/guidelines-relevant-advanced-therapy-medicinal-products>. Zugegriffen am 08.03.2023
- Fehse B, Abramowski-Mock U (2021) Anwendung des Genome Editing in der somatischen Gentherapie. Eine Einführung. Springer Fachmedien. Springer Nature, Wiesbaden
- Fehse B et al (Hrsg) (2022) Im Fokus: RNA. Eine aktuelle Bestandsaufnahme der Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht. BIH, Berlin. Unter: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/37118>. Zugegriffen am 08.03.2023

- Ferrari G (2021) Gene therapy using haematopoietic stem and progenitor cells. *Nat Rev Genetics* 22:216–234
- Human Gene Therapy Products Incorporating Human Genome Editing/Draft Guidance for Industry (2022) Human gene therapy products incorporating human genome editing. Unter: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/human-gene-therapy-products-incorporating-human-genome-editing>. Zugegriffen am 08.03.2023
- Ilic D, Ogilvie C (2022) Pluripotent stem cells in clinical setting – new developments and overview of current status. *Stem Cells* 40(9):791–801
- Jinek M et al (2012) A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337:816–821
- Kustikova O et al (2005) Clonal dominance of hematopoietic stem cells triggered by retroviral gene marking. *Science* 308:1171–1174
- Li Z et al (2002) Murine leukemia induced by retroviral gene marking. *Science* 296:497
- Mendonça MCP et al (2023) Design of lipid-based nanoparticles for delivery of therapeutic nucleic acids. *Drug Discov Today* 28(3):103505
- Modlich U et al (2006) Cell-culture assays reveal the importance of retroviral vector design for insertional genotoxicity. *Blood* 108:2545–2553
- National Academy of Medicine et al. (2020) Heritable human genome editing. Unter: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/25665/heritable-human-genome-editing>. Zugegriffen am 08.03.2023
- Parmar M et al (2020) The future of stem cell therapies for Parkinson disease. *Nat Rev Neuroscience* 21:103–115
- Poletti V, Mavilio F (2021) Designing lentiviral vectors for gene therapy of genetic diseases. *Viruses* 13:1526
- Pupo A et al (2022) AAV vectors: the Rubik’s cube of human gene therapy. *Mol Ther* 30(12):3515–3541
- Schuhmacher A et al (2021) R&D efficiency of leading pharmaceutical companies – a 20-year analysis. *Drug Discov Today* 26(8):1784–1789
- Schuhmacher A et al (2022) Open innovation: a paradigm shift in pharma R&D? *Drug Discov Today* 27(9):2395–2405
- Takahashi K et al (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131(5):861–872
- Wang D et al (2019) Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nat Rev Drug Discov* 18(5):358–378
- Xie W et al (2021) Evolution of the market for mRNA technology. *Nat. Rev. Drug Discovery* 20:735
- Yamanaka S (2020) Pluripotent stem cell-based cell therapy – promise and challenges. *Cell Stem Cell* 27(4):523–531

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Teil III

Ethik, Recht und Gesellschaft



Rechtlicher Rahmen und rechtliche Hürden für Zell- und Gentherapien in Deutschland

17

Ralf Müller-Terpitz

17.1 Rechtlicher Rahmen

17.1.1 Somatische Zell- und Gentherapien

Gentherapien, sei es in Gestalt der Genaddition oder der Genomeditierung, an körpereigenen, d. h. somatischen Zellen, unterliegen zunächst den allgemeinen medizinrechtlichen Anforderungen.¹ Gleiches gilt für die somatische Zelltherapie. Neben der aufgeklärten Einwilligung (Informed Consent) des Patienten oder der vertretungsberechtigten Personen (Eltern, Betreuer etc.) setzen diese Therapieformen vor allem eine Risiko-Nutzen-Analyse voraus. Diese hat sich am Schweregrad und dem Verlauf der zu behandelnden Erkrankung, an möglicherweise verfügbaren Therapiealternativen sowie an den Erfolgsaussichten einer (ggf. unerprobten) zell- oder gentherapeutischen Maßnahme zu orientieren.² Seit 2013 sind beide Aspekte ausführlich im Zivilrecht (§§ 630d, 630e BGB) geregelt.³ Soweit es sich bei der Zell- oder Gentherapie um einen Heilversuch, d. h. um die Erzielung eines konkreten Therapieerfolgs durch einen gezielten, aber noch unerprobten Therapieversuch handelt, muss sich der Arzt zudem einer berufsethischen und berufsrechtlichen Beratung durch eine Ethikkommission unterziehen.⁴

¹Bundesärztekammer 2021: 7.

²Vgl. Bundesärztekammer 2021: 7.

³Näher dazu Gassner und Spranger 2020: 24 ff.; Taupitz und Boscheinen 2018: 173 ff.

⁴Vgl. § 15 der (Muster-)Berufsordnung für die in Deutschland tätigen Ärztinnen und Ärzte – MBO-Ä 1997 – i. d. F. des Beschlusses des 124. Deutschen Ärztetages 2021 in Berlin.

R. Müller-Terpitz (✉)

Institut für Deutsches, Europäisches und Internationales Medizinrecht, Gesundheitsrecht und Bioethik der Universitäten Heidelberg und Mannheim, Mannheim, Deutschland
e-mail: mueller-terpitz@uni-mannheim.de

Neben diesen allgemeinen medizinrechtlichen Anforderungen können – je nach Sachverhalt – spezielle und teils komplexe Rechtsgrundlagen hinzutreten. Hierzu gehören primär arzneimittelrechtliche Regelungen in Gestalt der Advanced-Therapy-Medicinal-Products-Verordnung (ATMP-VO),⁵ der Verordnung über klinische Prüfungen⁶ sowie des Arzneimittelgesetzes (AMG). Mit Blick auf die gentechnische Veränderung von Zellen kann zudem das Gentechnikgesetz (GenTG) zur Anwendung kommen.⁷ Zwar gilt dieses Gesetz gemäß § 2 Abs. 3 GenTG nicht für die Anwendung gentechnisch veränderter Organismen am Menschen. Bei In-vitro-Veränderung kann es dennoch diejenigen Bearbeitungsschritte erfassen, die der unmittelbaren Anwendung gentechnisch veränderter Zellen am Menschen vor- oder nachgelagert sind. So erfasst das GenTG gentechnische Tätigkeiten mit menschlichen Zellen und Zellkulturen, die nicht direkt am Menschen durchgeführt werden. Hierbei kann es sich auch um Zwischenschritte zur Diagnose oder Therapie handeln, die in vitro durchgeführt werden.⁸

Ziel dieser Bestimmungen ist es, die Qualität und die Sicherheit der eingesetzten Verfahren und Produkte zu gewährleisten.⁹

Einer besonderen Betrachtung bedürfen die bereits erwähnten Arzneimittel für neuartige Therapien („Advanced Therapy Medicinal Products“ oder kurz ATMPs). Bei ATMPs handelt es sich um innovative und komplexe Arzneimittel, die zur Behandlung schwer kranker Menschen eingesetzt werden und z. B. aus (Stamm-)Zellen bestehen. Die Zulassung und der Einsatz solcher Arzneimittel für neuartige Therapien sind an strenge Vorgaben geknüpft, um ihre Sicherheit, Qualität und Wirksamkeit zu gewährleisten. Diese Vorgaben finden sich in EU-Rechtsakten und zum Teil im nationalen Recht. Insoweit an erster Stelle zu nennen ist die bereits erwähnte ATMP-VO, die unterschiedliche Klassifizierungen von ATMPs (Gentherapeutika, somatische Zelltherapeutika, biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte, kombinierte ATMPs) mit unterschiedlichen Anforderungen an ihre Entwicklung und Zulassung vorsehen. Definitionen sowie detaillierte technische und wissenschaftliche Anforderungen enthält zudem die Richtlinie 2009/120/EG der Europäischen Kommission zur Änderung der Richtlinie 2001/83/EG zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel im Hinblick auf Arzneimittel für neuartige Therapien.

Die Zulassung eines ATMP erfolgt durch die Europäische Arzneimittel-Agentur (European Medicines Agency oder kurz EMA) im Rahmen eines zentralisierten Zulassungsverfahrens mit Wirkung für den gesamten Europäischen Wirtschaftsraum.¹⁰ Enthält oder besteht ein ATMP aus gentechnisch veränderten Organismen (GVOs) müssen vor Beginn einer klinischen Prüfung zudem die strengen Vorgaben der Richtlinie 2001/18/EG des Europäischen Parlaments und des Rates über die ab-

⁵Verordnung (EG) 1394/2007.

⁶Verordnung (EU) Nr. 536/2014.

⁷Bundesärztekammer 2021: 7.

⁸Fenger 2022: § 2 Rn. 5.

⁹Bundesärztekammer 2021: 7; Schauer 2022: 487.

¹⁰Schauer 2022: 483.

sichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt (GVO-RL) eingehalten werden.¹¹ Die GVO-RL wurde innerstaatlich durch das GenTG umgesetzt.

Soweit es sich bei einem stammzellbasierten Therapeutikum nicht um ein ATMP, sondern um eine Gewebezubereitung i. S. d. § 4 Abs. 30 AMG handelt, kann im Übrigen gemäß § 21 Abs. 2 Nr. 1a AMG die arzneimittelrechtliche Zulassungspflicht für diese Zubereitung entfallen. Hierfür muss die Verwendung des Therapeutikums bei derjenigen Person erfolgen, von der die Stammzellen stammen (autologe Therapie), oder bei einer anderen festgelegten Person (gerichtete Anwendung).¹² Grund für die Ausnahme von der Zulassungspflicht ist, dass es sich bei diesen Gewebezubereitungen nicht um standardisierte, sondern um individuelle Therapien handelt. Die Qualität und Abgabe solcher Zubereitungen wird deshalb durch die Vorschriften zur Herstellungserlaubnis (§ 13 AMG) oder zur Erlaubnis für die Be- oder Verarbeitung von Gewebe oder Gewebezubereitungen (§ 20c AMG) gesichert.¹³

17.1.2 Keimbahnbezogene Zell- und Gentherapien

Bei zell- und genterapeutischen Maßnahmen auf Keimbahnebene ist vor allem das Embryonenschutzgesetz (ESchG) zu beachten. Unter Keimbahnzellen versteht das Gesetz „alle Zellen, die in einer Zelllinie von der befruchteten Eizelle bis zu den Ei- und Samenzellen des aus ihr hervorgegangenen Menschen führen, ferner die Eizelle vom Einbringen oder Eindringen der Samenzelle an bis zu der mit der Kernverschmelzung abgeschlossenen Befruchtung“ (§ 8 Abs. 3 ESchG). Werden Genmodifikationen an einem menschlichen Embryo *in vitro* vorgenommen, haben diese Einfluss auf die solchermaßen definierten Keimbahnzellen.

Für Zelltherapien an frühen Embryonalstadien *in vitro* finden sich derzeit keine Anwendungsszenarien. Sollte sich dies in Zukunft ändern, wären für solche Zelltherapien neben den vorstehend (Abschn. 17.1.1) skizzierten allgemeinen Voraussetzungen (aufgeklärte Einwilligung der Gametenspender) vor allem die strafbewehrten Verbote aus § 2 Abs. 1 ESchG und § 7 Abs. 1 ESchG zu beachten: Die zelltherapeutische Maßnahme müsste der Erhaltung des Embryos *in vitro* dienen und dürfte nicht zu einer Chimärenbildung i. S. d § 7 Abs. 1 Nr. 2 ESchG (Verbindung einer Zelle mit einem menschlichen Embryo, die eine andere Erbinformation als die Zellen des Embryos enthält und sich mit diesem weiter zu differenzieren vermag) führen. Da die Anwendbarkeit des ESchG im Regelfall mit der Einnistung des Embryos im Uterus der empfangenden Frau endet,¹⁴ finden diese Restriktionen auf zelltherapeutische Maßnahmen am Fetus keine Anwendung; für diese gilt das zur somatischen Zelltherapie Gesagte.

¹¹ Schauer 2022: 487.

¹² Gassner und Spranger 2020: 135.

¹³ Vgl. BT-Drs. 15/5316: 36.

¹⁴ Vgl. Taupitz 2014: C II. § 8 Rn. 6.

Genaddierende oder geneditierende Therapien am menschlichen Embryo *in vitro* sind hingegen bereits heute vorstellbar und werden seit Längerem intensiv diskutiert. In Deutschland steht solchen Techniken derzeit § 5 Abs. 1 bis 3 ESchG entgegen. § 5 Abs. 1 ESchG bedroht denjenigen mit Freiheitsstrafe bis zu fünf Jahren oder mit Geldstrafe, der „die Erbinformation einer menschlichen Keimbahnzelle künstlich verändert“. Wie bereits erwähnt, umfasst dies auch gentherapeutische Maßnahmen am Embryo *in vitro*. Die Veränderung ist künstlich, wenn sie nicht auf natürlichem Wege, etwa durch eine Mutation oder durch Umwelteinflüsse, sondern durch menschliche Intervention verursacht wurde.¹⁵ Die Regelung basiert mithin auf einem prozessorientierten (menschliche Intervention) und nicht auf einem ergebnisorientierten („Unnatürlichkeit“ der Veränderung) Ansatz. Ebenso wird bestraft, wer eine menschliche Keimzelle, d. h. eine Ei- oder Samenzelle, mit künstlich veränderter Erbinformation zur Befruchtung verwendet (§ 5 Abs. 2 ESchG). Auch der Versuch dieser Tathandlungen ist strafbar (§ 5 Abs. 3 ESchG).

17.2 Rechtliche Hürden und Problembereiche

Diese Darstellung des Rechtsrahmens vorausgeschickt, sollen im Weiteren regulatorische Hürden und Problembereiche der Zell- und Gentherapie skizziert werden.

17.2.1 Regulatorische Herausforderungen bei ATMPs

ATMPs sind besonderen regulatorischen Herausforderungen unterworfen. Die Einhaltung der (teils kumulierten) Vorgaben erweist sich als große Hürde für die Entwicklung, Zulassung und Anwendung von ATMPs in der Europäischen Union.¹⁶ Insofern stellen sich unterschiedliche Probleme:

Herausforderungen durch die GVO-Richtlinie

Bei der Entwicklung und Zulassung von ATMPs bereitet einerseits die Komplexität der GVO-Richtlinie und des GenTG sowie andererseits die nicht einheitliche Umsetzung der Richtlinie durch die Mitgliedsstaaten Schwierigkeiten. Beides erschwert die Durchführung klinischer Prüfungen von ATMPs innerhalb der Europäischen Union. Dies wiederum hat zur Folge, dass potenzielle Therapieformen für Patienten nicht angewandt werden.¹⁷ Allerdings ist fraglich, ob ATMPs, die aus GVOs bestehen oder solche enthalten, aufgrund deren Kurzlebigkeit und geringen Zahl überhaupt ein nennenswertes Risiko für die Umwelt darstellen.¹⁸ Vor diesem Hintergrund wird vor-

¹⁵Taupitz 2014: C II. § 5 Rn. 12.

¹⁶Gassner und Spranger 2020: 90; Schauer 2022: 490.

¹⁷Schauer 2022: 488.

¹⁸Dies bestreitend Schauer 2022: 488.

geschlagen, ATMPs von der Geltung der GVO-RL (und damit des GenTG) auszunehmen.¹⁹ Freilich wäre diese Entscheidung auf EU-Ebene zu treffen.

Klassifizierung von ATMPs im Rahmen des Zulassungsverfahrens

Bislang wurden nur wenige Zulassungen für ATMPs erteilt. Das insoweit erforderliche Zulassungsverfahren hat sich als langwierig und für die Hersteller kostspielig erwiesen.²⁰ Insbesondere scheint die Einstufung von ATMP-Produkten in die einzelnen ATMP-Kategorien – nicht zuletzt in den Überschneidungsbereichen dieser Kategorien – Schwierigkeiten zu bereiten. Auch die Leitlinien der EMA konnten diese Rechtsunsicherheit augenscheinlich bislang nicht beseitigen. Die ATMP-VO enthält zudem mehr Klassifizierungskategorien als beispielsweise das US-amerikanische Recht. Zwar besteht gemäß Art. 17 ATMP-VO die Möglichkeit, für die Klassifizierung von ATMPs eine wissenschaftliche Empfehlung des EMA-Ausschusses für neuartige Therapien (CAT) einzuholen. Aufgrund ihrer Unverbindlichkeit ist diese Empfehlung jedoch nicht geeignet, die Rechtsunsicherheiten bezüglich der Klassifizierung von ATMPs zu beseitigen. Diese fehlende rechtliche Verbindlichkeit wird in der Literatur deshalb scharf kritisiert.²¹ Auch insoweit wäre eine Rechtsänderung jedoch auf EU-Ebene herbeizuführen.

Zudem belasten weitere Faktoren das Zulassungsverfahren und tragen in der Folge mit dazu bei, dass Zulassungsanträge erst gar nicht gestellt werden. So stellt das EU-Recht an Phase-I-Studien strengere Anforderungen als etwa das US-amerikanische Recht.²² Bei ATMPs führt dies zu (Mehr-)Kosten in Millionenhöhe, die insbesondere für Universitätskliniken nicht zu tragen sind. Entsprechend finden in der EU kaum noch „Investigator-Initiated Trials“ (IITs) statt.

Krankenhausausnahme

Art. 28 Nr. 2 ATMP-VO i. V. m. Art. 3 Nr. 7 der Richtlinie 2001/83/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel (Humanarzneimittel-RL) regelt die Möglichkeit der Genehmigung eines ATMP auf nationaler Ebene. In Deutschland wurde diese Möglichkeit durch § 4b Abs. 3 i. V. m. § 21a AMG umgesetzt. Eine solche Genehmigung darf erteilt werden, wenn das ATMP nicht routinemäßig hergestellt, sondern individuell für einen einzelnen Patienten zubereitet sowie ärztlich verschrieben wurde und es in einer spezialisierten Einrichtung der Krankenversorgung unter der fach-

¹⁹ Schauer 2022: 488.

²⁰ Schauer 2022: 488. Siehe ferner Gassner und Spranger 2020: 93 f.

²¹ Zum Vorstehenden m. w. N. Schauer 2022: 488.

²² Vgl. hierzu die EU-Guidelines vom 22.11.2017 „Good Manufacturing Practice for Advanced Therapy Medicinal Products“ (C(2017) 7694 final), wo unter Scope 1.1 für „investigational medicinal products“ die „Good Manufacturing Practice“-Standards eingefordert werden. Demgegenüber senkt § 210.2 (c) des US-Code of Federal Regulations die Standards insoweit ab. Die Federal Drug Agency (FDA) hat diese gesetzliche Vorgabe in ihrer „Guidance for Industry – CGMP for Phase I Investigational Drugs“ vom Juli 2008 konkretisiert (siehe unter: <https://www.fda.gov/media/70975/download>).

lichen Verantwortung eines Arztes angewendet wird.²³ Zudem muss das ATMP dem Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis entsprechen, die vorgesehene therapeutische Funktion erfüllen und bei seinem Einsatz muss der potenzielle Nutzen das Risiko überwiegen.²⁴

Diese sog. „Krankenhausausnahme“ birgt Vor- und Nachteile: Einerseits können Patienten, für die noch keine zugelassene Therapie existiert, auf der Grundlage dieser Ausnahmeklausel behandelt werden. Zudem entstehen hierdurch klinische Erkenntnisse und Erfahrungen, die in künftige ATMP-Zulassungsanträge eingebracht werden können.²⁵ Auf diese Weise werden die Forschung an und Entwicklung von ATMPs gefördert.²⁶ Andererseits macht die Inanspruchnahme der Krankenhausausnahme große klinische ATMP-Studien obsolet und es profitiert nur ein Bruchteil der Patienten von dem neuartigen Arzneimittel. Zudem bestehen auch hier regulatorische Unterschiede zwischen den Mitgliedstaaten.²⁷

Insgesamt ermöglicht die Krankenhausausnahme den Einsatz von ATMPs im Vergleich zum zentralen Zulassungsverfahren nach ATMP-VO in einigen Konstellationen kostengünstiger und unkomplizierter. Dies hat zur Folge, dass dieser Ausnahmetatbestand häufig zur Umgehung des komplizierten ATMP-Zulassungsverfahrens genutzt wird.²⁸ Da das Zulassungsverfahren jedoch die Sicherheit und Qualität von ATMPs gewährleisten soll und ein europaweit zugelassenes neuartiges Arzneimittel einer Vielzahl von Patienten zur Verfügung stünde, ist diese Entwicklung als problematisch zu qualifizieren.²⁹

17.2.2 Regulatorische Herausforderungen durch ungeprüfte Stammzelltherapien

Bei sog. ungeprüften Stammzelltherapien („unproven stem cell therapies“) handelt es sich um zumeist kommerzielle Behandlungen, die ohne vorausgegangene klinische Prüfung auf Wirksamkeit und Sicherheit angeboten werden und als Therapie über keine behördliche Zulassung verfügen. Mangels Überprüfung kann ihr Einsatz schweren Schaden für die behandelten Patienten und – daraus resultierend – für das Gesund-

²³ Vgl. § 4b Abs. 1 AMG sowie Paul-Ehrlich-Institut 2012: 11.

²⁴ Paul-Ehrlich-Institut 2012: 9. Einschränkend ist jedoch hinzuzufügen, dass für Gentherapien die benutzten Vektoren nach dem Stand der Technik unter GMP-Bedingungen hergestellt worden sein müssen, was die Möglichkeit der Inanspruchnahme einer Krankenhausausnahme für viele ATMPs weitgehend ausschließt. Hierfür wird zudem eine Herstellungsgenehmigung der Landesbehörde benötigt.

²⁵ Schauer 2022: 489.

²⁶ Gassner und Spranger 2020: 123.

²⁷ Schauer 2022: 489.

²⁸ Schauer 2022: 489.

²⁹ Schauer (2022: 489) plädiert deshalb für eine stärkere unionsrechtliche Harmonisierung des Ausnahmetatbestands. Die gegenteilige Stoßrichtung vertreten Gassner und Spranger (2020: 146), die zudem eine ergänzende Anwendung der Bona-fide-Ausnahme des Art. 5 Abs. 1 Humanarzneimittel-RL empfehlen.

heitssystem sowie für das Vertrauen der Menschen in die Forschung auf dem Gebiet der Stammzelltherapien verursachen.³⁰ Solche Therapien werden – oft ohne Beschreibung der exakten Behandlungsmethode – in zahlreichen Ländern (China, USA etc.) unter Ausnutzung verzweifelter Therapiewünsche schwer kranker oder moribunder Patienten angeboten.³¹ Für den europäischen Regulierungsraum bedarf es indes stets einer kontextabhängigen, differenzierenden Bewertung dieser lediglich abstrakt umschriebenen Therapieform. Namentlich kann sie von einer (unzulässigen) Verwendung gänzlich ungeprüfter Stammzellpräparate bis hin zu einer (zulässigen) Verwendung von ATMPs reichen, die kurz vor ihrer Zulassung stehen und vorab im Rahmen eines „compassionate use“ abgegeben werden sollen oder im Rahmen der Krankenhausausnahme (Abschn. 17.2.1) hergestellt und verwendet werden.³² Insgesamt sind aus ordnungsrechtlicher Perspektive die Möglichkeiten der Durchführung einer ungeprüften Stammzelltherapie in Deutschland deshalb eher begrenzt.³³

Auf ungeprüfte Stammzelltherapien findet zunächst die allgemeine Straf- und Zivilrechtsordnung mit ihren repressiven Sanktionsandrohungen (Freiheitsstrafe, Schadensersatz) sowie das ärztliche Standesrecht mit seinen präventiven berufsrechtlichen Sanktionsmöglichkeiten Anwendung. Zudem ist der deutsche Gesetzgeber 2019 tätig geworden, um Fehlentwicklungen im Bereich ungeprüfte Arzneimitteltherapien entgegenzuwirken.³⁴ So ist die Anwendung nicht zulassungs- oder genehmigungspflichtiger Arzneimittel für neuartige Therapien gemäß § 67 Abs. 9 AMG beim Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) anzeigepflichtig. Durch diese Anzeigepflicht sollen Risiken, die aus der Anwendung solcher Arzneimittel resultieren können, durch die Eröffnung einer Überwachungsmöglichkeit minimiert werden. Bei einem Verstoß gegen diese Anzeigepflicht kann gemäß § 97 Abs. 2 Nr. 7 Buchst. c AMG ein Bußgeld bis zu 25.000 € verhängt werden.³⁵ Hinzu kommen die Dokumentations- und Meldepflichten der behandelnden Person in Bezug auf Verdachtsfälle von Nebenwirkungen nach § 63j AMG.³⁶ Zudem wird durch § 13 Abs. 2b S. 2 AMG die Möglichkeit zur erlaubnisfreien Herstellung von Arzneimitteln zur persönlichen Anwendung bei einem bestimmten Patienten durch solche Personen, die keine Ärzte oder Zahnärzte sind, auf nicht verschreibungspflichtige Arzneimittel restringiert.³⁷ Spiegelbildlich dazu ist aus Gründen des Patientenschutzes in § 20d S. 1 AMG die erlaubnisfreie Umgang mit Geweben und Gewebesubereitungen durch nichtärztliche Personen gestrichen worden.³⁸ Durch diese gesetzgeberischen Maßnahmen soll sichergestellt werden, dass nur noch qualifizierte Personen Stammzell-

³⁰ Besser et al. 2020: 139; Gassner und Spranger 2020: 141.

³¹ Besser et al. 2020: 139.

³² Gassner und Spranger 2020: 142. Siehe ferner Besser et al. 2020: 145 f.

³³ Besser et al. 2020: 139; Gassner und Spranger 2020: 146.

³⁴ Gassner und Spranger 2020: 142.

³⁵ Gassner und Spranger 2020: 142 f.

³⁶ Gassner und Spranger 2020: 143 f.

³⁷ Gassner und Spranger 2020: 144.

³⁸ Gassner und Spranger 2020: 145.

therapien durchführen dürfen. Es erscheint ratsam, erst die Wirkung dieser gesetzlichen Regelungen zu evaluieren, bevor weitere Reformen ins Auge gefasst werden.³⁹

17.2.3 Regulatorische Herausforderungen durch Keimbahntherapien

Mit Blick auf genbasierte Keimbahntherapien sind zwei regulatorische Aspekte zu unterscheiden: die Forschung an und mit menschlichen Embryonen zur Entwicklung gentherapeutischer Keimbahninterventionen sowie deren Einsatz zu Therapie-zwecken.⁴⁰

Die Frage, ob bzw. in welchem Umfang eine Embryonenforschung zur Entwicklung genbasierter Keimbahntherapien zulässig ist, bemisst sich nach Maßgabe des nationalen Rechts. In Deutschland stehen einer solchen Forschung gegenwärtig Strafrechtsnormen wie § 5 Abs. 1 bis 3 ESchG und § 2 Abs. 1 ESchG entgegen. Auch wenn über den Beginn und die Intensität des Grundrechtsschutzes für früheste embryonale Stadien in der deutschen Rechtswissenschaft bis heute keine Einigkeit besteht,⁴¹ scheint jedenfalls anerkannt zu sein, dass der Gesetzgeber mit den gegenwärtigen Forschungsverböten einen verfassungskonformen Ausgleich zwischen den kollidierenden Grundrechtsgütern des menschlichen Embryos aus Art. 1 Abs. 1 GG (Menschenwürde) und Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG (Leben und körperliche Unversehrtheit), die ihm ab der „Kernverschmelzung“⁴² zugutekommen, einerseits sowie der Forschungsfreiheit (Art. 5 Abs. 3 GG) andererseits vorgenommen zu haben. Soweit andere Rechtsordnungen – wie etwa Großbritannien oder Österreich – frühen embryonalen Stadien *in vitro* keinen vergleichbaren Grundrechtsschutz zubilligen, können sie eine Embryonenforschung zur Entwicklung genbasierter Keimbahntherapien grundsätzlich erlauben. Das hierdurch generierte Wissen steht langfristig auch in solchen Rechtsordnungen zur Verfügung, die – wie Deutschland – eine Embryonenforschung verbieten.

Soweit keimbahninterventionelle Gentechniken zu Therapie-zwecken eingesetzt werden sollen, erweist sich ein Verbot solcher Maßnahmen als staatlicher Eingriff in das Recht auf Gesundheit therapiebedürftiger Embryonen (Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG) sowie in das Recht der Eltern, reproduktive Ziele nach eigenen Vorstellungen zu verwirklichen (Art. 2 Abs. 1 i. V. m. Art. 1 Abs. 1 GG, Art. 6 Abs. 1 GG sowie Art. 8 Abs. 1 EMRK). Hinzu kommt das Recht der Ärzte auf Ausübung ihrer beruflichen Tätigkeit (Art. 12 Abs. 1 GG). Bereits dieser kursorische Grundrechtsüberblick verdeutlicht, dass ein Verbot therapeutischer Keimbahninterventionen rechtfertigungsbedürftig ist. Gegenwärtig gelingt diese Rechtfertigung jedoch: Sie resultiert aus den naturwissenschaftlichen Unsicherheiten, mit denen gentechnikbasierte Keim-

³⁹In diesem Sinne schon Gassner und Spranger 2020: 147.

⁴⁰Ausführlich zum Nachfolgenden Müller-Terpitz 2021: 237.

⁴¹Vgl. hierzu aus jüngerer Zeit je m. w. N. Enghofer 2019: 124 ff.; Laimböck 2015: 43 ff.; Lacker-mair 2017: 104 ff.; Müller-Terpitz 2022: 800 f.

⁴²Vgl. § 8 Abs. 1 ESchG.

bahninterventionen momentan noch behaftet sind. Obschon moderne Genomeditierungstechniken wie das CRISPR/Cas-System im Vergleich zu früheren Genomeditierungsverfahren ein ungleich höheres Maß an Präzision und Effizienz aufweisen, stellen auch sie nach wie vor eine Technologie dar, bei deren Einsatz On-Target- oder Off-Target-Effekte sowie genetische Mosaikbildungen nicht mit einer für erfolgreiche Therapieeinsätze gebotenen Sicherheit auszuschließen sind. Für den Embryo, Fetus oder später geborenen Menschen könnten solche Effekte tödliche oder jedenfalls gravierende pathologische Folgen haben, die sich zudem möglicherweise erst im Laufe seines Lebens offenbaren. Überhaupt können Effekte einer Keimbahnveränderung unter Einschluss ihrer Auswirkungen auf die Nachkommenschaft erst nach Jahrzehnten sicher bewertet werden. Trotz der durch moderne Editierungsverfahren bewirkten massiven Fortschritte bei der zielgerichteten Veränderung von Genen wird deshalb zu Recht sowohl in Deutschland⁴³ als auch in anderen Ländern⁴⁴ das Fortbestehen eines Moratoriums für Keimbahntherapien am Menschen gefordert.

Das CRISPR/Cas-System eignet sich allerdings nicht nur zur Genom-, sondern auch zur Epigenomeditierung. Mangels Doppelstrangbruchs führt diese nicht zu einer Veränderung der DNA-Sequenz, sondern beeinflusst über chemische Prozesse „lediglich“ die Expression eines an sich unverändert bleibenden Gens. Die epigenetische Veränderung könnte in Zukunft für solche Erkrankungen relevant werden, denen – wie beim Angelman-, Kagami-Ogata-, Prader-Willi- und Temple-Syndrom – eine fehlerhafte genomische Prägung zugrunde liegt (sog. Imprinting-Disorder).⁴⁵ Im Regelfall ist diese chemische Veränderung der Genexpression nicht auf die nächste Generation vererbbar. Schon allein deshalb lässt sich diese Technik kaum unter den von § 5 Abs. 1 ESchG verwandten Begriff der „Erbinformation“ subsumieren. Vererbbar ist lediglich die DNA als solche, nicht aber die Art und Weise ihrer Regulation. Entsprechend gehen auch die Gesetzesmaterialien davon aus, dass die künstliche Veränderung menschlicher Keimbahnzellen den Austausch eines „defekten Gens“ durch ein „intaktes Gen“ voraussetzt, es also zu einer Veränderung der DNA-Basenabfolge kommen muss.⁴⁶ Als Strafnorm unterfällt § 5 Abs. 1 ESchG im Übrigen dem sog. Analogieverbot (Art. 103 Abs. 2 GG, § 1 StGB) und ist deshalb eng, d. h. entlang des Wortlauts auszulegen.⁴⁷ Vor diesem Hintergrund ist davon auszugehen, dass das Verbot der Keimbahnintervention aus § 5 Abs. 1 ESchG lediglich die Methodik der Genomeditie-

⁴³Deutscher Ethikrat 2019: 44 u. ö.

⁴⁴Pressemitteilung der österreichischen Bioethikkommission anlässlich der Geburt zweier durch Keimbahneingriff veränderter Mädchen in China im November 2018, 18.12.2018. Siehe unter: <https://www.bundeskanzleramt.gv.at/themen/bioethikkommission/pressemitteilungen-bioethik/bioethikkommission-anlasslich-der-geburt-zweier-durch-keimbahneingriff-veranderter-madchen-in-china-im-november-2018.html> [07.05.2023].

⁴⁵Müller-Terpitz 2022: 235 f. m. w. N.

⁴⁶Vgl. Gesetzentwurf der Bundesregierung für ein Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz – ESchG), BT-Drs. 11/5460: 11.

⁴⁷Vgl. statt vieler Bobsien 2016: 138 m. w. N.

rung, nicht aber auch diejenige der Epigenomeditierung umfasst.⁴⁸ Angesichts des Umstands, dass eine CRISPR/Cas-basierte Epigenomeditierung allerdings mit den gleichen Off-Target-, On-Target- und Mosaikbildungsrisiken wie eine Genomeditierung behaftet ist, erweist sich diese Gesetzeslücke als problematisch. Überhaupt sollten bei künftigen Gesetzgebungsprozessen stets beide Editierungsverfahren in den Blick genommen werden und, soweit erforderlich, der Gesetzeswortlaut auf beide Techniken anwendbar sein.⁴⁹

Jenseits dieser pragmatischen Erwägungen für ein Verbot der Keimbahnintervention sind aus rechtlicher Perspektive jedoch keine kategorialen Einwände gegen den Einsatz moderner Editierungstechniken auf Keimbahnebene ins Feld zu führen (zur ethischen Perspektive siehe Schickl, Kap. 18). Sollten diese Techniken eines Tages hinreichend sicher anwendbar sein und alternative sowie vergleichbar sichere Therapiewege nicht zur Verfügung stehen, ist nicht ersichtlich, inwiefern grundrechtliche Schutzaspekte einer therapeutischen Keimbahnintervention entgegenstehen. Im therapeutischen Szenario erfolgt die Intervention vielmehr mit dem Ziel, später geborenen Individuen schweres krankheitsbedingtes Leid zu ersparen. Im Interesse des werdenden Kindes unter Einschluss seiner potenziellen Nachkommen wäre eine solche therapeutische Handlungsoption deshalb in Betracht zu ziehen;⁵⁰ entsprechend wäre ihr gesetzliches Totalverbot verfassungsrechtlich kaum zu rechtfertigen.⁵¹ Freilich bedürfte es insoweit einer rechtlichen Einhegung, die die Editierungstechniken, auch in Abgrenzung zu illegitimen nicht therapeutischen Maßnahmen, auf konkrete Anwendungsszenarien begrenzt und verfahrensrechtlich ausgestaltet.⁵² § 3a ESchG (Präimplantationsdiagnostik) kann insofern als Orientierungshilfe für eine solche Ausgestaltung dienen.

Literatur

- Besser D et al (2020) Ungeprüfte Stammzelltherapieangebote. In: Zenke M et al (Hrsg) Stammzellforschung. Nomos, Baden-Baden, S 139–152
- Bobsien CO (2016) Die Zulässigkeit von Herstellung, Nutzung, Import und Implantation nukleozytoplasmischer Mensch-Tier-Hybride aus rechtlicher und rechtspolitischer Sicht. Duncker & Humblot, Berlin
- Bundesärztekammer (2021) Stellungnahme „Genom-Editierung: Perspektiven für die Humanmedizin“. In: DÄBl
- Deutscher Ethikrat (2019) Eingriffe in die menschliche Keimbahn. Stellungnahme vom 09.05.2019. Unter: <https://www.ethikrat.org/pressekonferenzen/veroeffentlichung-der-stellungnahme-eingriffe-in-die-menschliche-keimbahn/> [07.05.2023]

⁴⁸ Müller-Terpitz 2022: 240 f.

⁴⁹ Müller-Terpitz 2022: 245.

⁵⁰ Vgl. insoweit auch Deutscher Ethikrat 2019: 131.

⁵¹ Für die verfassungsrechtliche Zulässigkeit therapeutischer Keimbahninterventionen unter der Prämisse ihrer Wirksamkeit und Erforderlichkeit wie hier Eberbach 2016: 758 ff.; Enghofer 2019: 662 ff. Siehe ferner Deutscher Ethikrat 2019: 104.

⁵² Erste Vorschläge hierzu bei Eberbach 2016: 758 ff.

- Eberbach WH (2016) Genom-Editing und Keimbahntherapie – Tatsächliche, rechtliche und rechtspolitische Aspekte. *MedR* 34:758–773
- Enghofer FE (2019) Humane artifizielle Gameten. Rechtsfragen ihrer Erzeugung und Verwendung. Lit Verlag, Berlin
- Fenger H (2022) Kommentierung zum GenTG. In: Spickhoff A (Hrsg) *Medizinrecht*. C. H. Beck, München
- Gassner UM, Spranger TM (2020) Stammzellen in Forschung und Therapie. Nomos, Baden-Baden
- Lackermair M (2017) *Hybride und Chimäre*. Mohr Siebeck, Tübingen
- Laimböck LH (2015) Totipotenz. Kritik eines normativen Kriteriums im Lichte neuer entwicklungsbiologischer Erkenntnisse. Lit Verlag, Berlin
- Müller-Terpitz R (2021) Genforschung und Gentherapie im Zeitalter der Genom- und Epigenom-Editierung – welche rechtlichen Grenzen sind (noch) haltbar? *WissR* 54(2):225–253
- Müller-Terpitz R (2022) Fortpflanzungsmedizinrecht – quo vadis? Verfassungsrechtliche Anmerkungen zu aktuellen Reformdiskussionen. *MedR* 40:794–801
- Paul-Ehrlich-Institut (2012) Arzneimittel für neuartige Therapien. ATMP – Advanced Therapy Medicinal Products – Regulatorische Anforderungen und praktische Hinweise. Unter: https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/regulation/beratung/innovationsbuero/broschuere-atmp.pdf?__blob=publicationFile&v=4. Zugegriffen am 07.05.2023
- Schauer MP (2022) Regulatorische Bestimmungen zur Klassifikation und Probleme bei der Zulassung von Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs) in der Europäischen Union. *PharmR* 5:482–490
- Taupitz J (2014) Kommentierungen zum ESchG. In: Günther H-L et al (Hrsg) *Embryonenschutzgesetz*. Kohlhammer, Stuttgart
- Taupitz J, Boscheinen J (2018) Patienten(Grund)Rechte bei neuartigen Stammzellen- und Gentherapien. In: Müller S, Rosenau H (Hrsg) *Stammzellen – iPS-Zellen – Genomeditierung*. Nomos, Baden-Baden

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Zum ethischen Paradigmenwechsel in der Debatte um (erbliches) Genome-Editing an Embryonen in vitro

18

Hannah Schickl

18.1 Einleitung: Die Debatte um Keimbahninterventionen

Eine medizinische Anwendung von Genome-Editing (GE) an menschlichen Embryonen in vitro im Reproduktionskontext ist durch die Entdeckung einer entsprechenden Nutzung von CRISPR/Cas (Jinek et al. 2012; siehe Fehse et al., Kap. 7; siehe auch Fehse et al. 2021) in den Bereich des Machbaren gerückt. Spätestens seit 2015 wurde die Möglichkeit, genetische Erkrankungen durch die „Korrektur“ von Genen vor deren Ausbruch ggf. auch für Nachkommen zu „heilen“, international sowohl unter Wissenschaftlern als auch in den Medien und innerhalb der Gesellschaft intensiv diskutiert. Aufgrund des rasanten Fortschritts der Forschung und Anwendung von CRISPR/Cas auch an menschlichen Zellen kam es dabei jeweils ausgelöst durch aufsehenerregende neue Versuche innerhalb weniger Jahre zu zwei bemerkenswerten Umbrüchen in der Debatte. Das erste, 2015 berichtete GE an nicht lebensfähigen menschlichen Embryonen im Forschungskontext (Liang et al. 2015) führte innerhalb der Wissenschaftscommunity zu Unsicherheiten und zog Rufe nach einem zeitlich befristeten Moratorium vor allem für den Anwendungskontext (Baltimore et al. 2015; Lander 2015; Reich et al. 2015), aber auch nach einem kompletten Verbot selbst für den Forschungskontext (Lanphier et al. 2015) nach sich. Ein Moratorium sollte dazu genutzt werden, Diskussionen anzustoßen, um zu einer Entscheidung über die ethische Zulässigkeit von Keimbahninterventionen (KBI) sowie zu einem breiten gesellschaftlichen Konsens zu deren Erwünschtheit zu finden. Zu diesem Zeitpunkt war man sich selbst auf der medizinischen Ebene unklar darüber, „ob und inwieweit es nützliche klinische Anwendungen für Keimbahnanwendungen gibt“ (NCoB 2015: 16). Entsprechend groß war die Verunsicherung auf der ethischen Ebene, sodass zum Teil davon ausgegangen wurde, es ließe sich in

H. Schickl (✉)

Berlin Institute of Health (BIH) at Charité, Berlin, Deutschland

e-mail: hannah.schickl@bih-charite.de

© Der/die Autor(en) 2024

B. Fehse et al. (Hrsg.), *Gen- und Zelltherapie 2.023 – Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-67908-1_18

267

diesem Fall überhaupt nicht zwischen „moralisch richtig“ und „moralisch falsch“ unterscheiden (Reich et al. 2015: 21). Die wiederholten Rufe nach einer gesellschaftlichen Debatte durch Gremien, die zur Klärung ebensolcher ethischer und rechtlicher Fragen eingesetzt wurden (u. a. NASEM 2015; EGE 2016; DER 2017; CCNE et al. 2020; EGE 2021), waren Ausdruck dieser Verunsicherung und muteten eher wie ein Versuch an, wenigstens eine Forderung aufzustellen. Dabei mangelte es an einer Spezifizierung, warum und wie die Gesellschaft einbezogen werden sollte (Kaelin 2018), die Rufe blieben phrasenhaft, akzeptanzheischend.

Mit dem Bericht der Nationalen Akademien (NASEM 2017) verschoben sich dann die Empfehlungen im Vergleich zu ihrem früheren Statement zum internationalen Gipfeltreffen (NASEM 2015) „von einem ‚Nicht-Erlauben, solange die Risiken nicht geklärt sind‘¹ zu einem ‚Erlauben, wenn die Risiken besser eingeschätzt werden können‘²“ (DER 2017: 3). Das führte innerhalb von nur zwei Jahren zu einem Umbruch in der Debatte von einem grundsätzlichen „Ob“ hin zu der Ausgestaltung des „Wie“. Obwohl der Deutsche Ethikrat diese Entwicklung 2017 noch kritisch sieht, schließt er sich in seiner Stellungnahme 2019 der Klärung des „Wie“ an: Es müsse bestimmt werden, „in welchen Fällen und unter welchen Bedingungen Keimbahneingriffe in Zukunft als sinnvoll und legitim eingestuft werden können“ (DER 2019: 232).³ Parallel wurden Stimmen laut, die von einer moralischen Verpflichtung ausgingen, „alle krankheitsverursachenden Gene aus einem Embryo zu entfernen, da dies die Gesamthäufigkeit der krankheitsverursachenden Gene im Genpool und damit das Auftreten solcher Krankheiten in künftigen Generationen verringert“ (Gyngell et al. 2017: 501), und die reproduktive Freiheit rückte in den Vordergrund (NASEM 2017; NCoB 2018). Bereits im Bericht der Nationalen Akademien von 2020 wird ein Translationspfad für klinische Anwendungen von KBI ausgearbeitet (NASEM 2020) und die WHO hat wenig später Empfehlungen für die Steuerung und Aufsicht entwickelt (WHO 2021). Für die European Group of Ethics geht es in ihren Empfehlungen 2021 schließlich vor allem darum, „sicherzustellen, dass das Genome-Editing der Keimbahn dem Schutz der Gesundheit dient“ und nicht dem Enhancement (EGE 2021: 87). Diese erneute Verschiebung des Fokus der Debatte von einer „Keimbahntherapie“ zum genetischen Enhancement, der Verbesserung gewünschter Eigenschaften, wurde ausgelöst durch die Bekanntgabe der Geburt zweier als Embryonen genomeditierter Kinder durch Jiankui He Ende 2018. Er hatte versucht, das CCR5-Gen auszuschalten, damit HI-Viren nicht

¹ „Es wäre unverantwortlich, mit der klinischen Anwendung des Keimbahneditings fortzufahren, solange nicht [...] die relevanten Sicherheits- und Wirksamkeitsfragen geklärt sind ...“ (NASEM 2015).

² „Wenn die technischen Herausforderungen überwunden werden und der potenzielle Nutzen im Verhältnis zu den Risiken angemessen ist, könnten klinische Studien eingeleitet werden ...“ (NASEM 2017: 102).

³ Wobei „eine kleine Minderheit [der Mitglieder des Ethikrats] der Auffassung [ist], dass man das Ziel von Keimbahneingriffen aus einer Zusammenschau von Gründen nicht verfolgen soll“ (DER 2019: 46).

mehr daran andocken können und die Kinder somit immun gegen HIV sind. Da es Hinweise darauf gibt, dass das Ausschalten von CCR5 auch mit einer höheren Intelligenz einhergeht, wurden die Versuche als Enhancement eingestuft (DG-GT 2018), das gerade bei Nichteinwilligungsfähigen aufgrund der Fremdbestimmung als ethisch besonders kritisch zu sehen ist (siehe auch Birnbacher 2020: 38 ff.).

Dieses Kapitel wird sich nicht mit genetischem Enhancement befassen (siehe hierzu Fangerau, Kap. 19), sondern mit der Anwendung von GE an menschlichen Embryonen in vitro im Reproduktionskontext zu therapeutischen bzw. präventiven Zwecken, genauer der ethischen Zulässigkeit einer solchen. Darin eingeschlossen sind genetische Veränderungen, die entweder nur den einzelnen Embryo oder durch Vererbung auch dessen Nachkommen betreffen. In dem Entwicklungsstadium, in dem ein solches GE an Embryonen in vitro vorgenommen werden würde (Blastozystenstadium, ca. 5/6 Tage nach der Befruchtung),⁴ sind die Zellen pluripotent, d. h. sie können sich noch zu allen Zellen des Körpers entwickeln. Bei einer vorgenommenen Genmodifikation entstehen in diesem Stadium zudem Mosaik, dann findet sich die Veränderung nur in manchen Zellen, in anderen nicht. Da weder vorhersehbar ist, welche Zellen sich zu somatischen und welche zu Keimbahnzellen weiterentwickeln, noch, welche Zellen modifiziert sein werden, ist ein Eingriff in Embryonen in vitro, wenn überhaupt, eine *unintendierte* bzw. nicht notwendigerweise eine KBI (Reich et al. 2015).⁵ Bei Eingriffen an Embryonen in vitro kann daher immer erst im Nachhinein festgestellt werden, ob eine „somatische (Einzel-embryo-)Gentherapie“ oder eine „Keimbahntherapie“ vorgenommen wurde und wer (nur der Embryo oder auch dessen Nachkommen) von dem Eingriff betroffen ist. Während es in der Debatte vorherrschend um KBI ging, müssen beide Fälle zusammen, aber differenziert betrachtet werden. Ethisch zulässig ist die Durchführung eines solchen GE nur, wenn die jeweiligen ethischen Argumente sowohl für ein Einzelembryo-GE als auch für ein Keimbahn-GE sprechen.⁶

⁴Diskutiert wird GE auch in früheren Stadien der befruchteten Eizelle oder in Gameten (Ei- und Samenzellen) bzw. humanen induzierten pluripotenten Stammzellen, die in Gameten weiterentwickelt werden. In diesen Stadien wäre GE effektiver und Risiken von Mosaikbildungen geringer, so früh lässt sich allerdings keine PID durchführen, um sicherzugehen, dass die zu korrigierende krankhafte genetische Veränderung überhaupt vorliegt. Ein unnötiges „blindes GE“, das das spätere Individuum außerdem Gesundheitsrisiken aussetzt, ist ethisch allerdings nicht zu rechtfertigen.

⁵In früheren Stadien der Embryonalentwicklung kann man davon ausgehen, dass eine KBI intendiert wäre.

⁶Das entspricht logisch einer 1-zu-3-Chance:

Einzelembryo-GE?	Keimbahn-GE?	
	Ja	Anwendung GE?
Ja	Nein	Nein
Nein	Ja	Nein
	Nein	Nein

18.2 Ethische Argumente⁷

18.2.1 Ethische Einwände gegen Keimbahninterventionen

Die ethischen Einwände, die vor allem gegen KBI vorgebracht wurden, aber weitgehend genauso für ein Einzelembryo-GE gelten, können in prinzipielle und nicht prinzipielle unterschieden werden. Prinzipielle Einwände sprechen sowohl gegen den Forschungs- als auch gegen den Anwendungskontext (hier Reproduktionsmedizin), nicht prinzipielle nur gegen den Anwendungskontext. Die wichtigsten prinzipiellen Argumente sind A) Menschenwürde-, B) Natürlichkeits- und C) Dambruchargumente. Sie wurden bereits Mitte der 1990er-Jahre nach dem erfolgreichen Klonen des Schafs Dolly gegen reproduktives Klonen und „Keimbahntherapien“ vorgebracht und hatten lange Zeit starkes Gewicht, das sich auch rechtlich in Verboten ausgewirkt hat. Mit dem ersten Umbruch in der Debatte wurden prinzipielle dann allerdings in einem regelrechten Dominoeffekt von nicht prinzipiellen Argumenten, vor allem dem D) Sicherheitsargument, abgelöst. Das aktuell international breit vertretene Sicherheitsargument spricht sich gegen die jetzige Anwendung im Reproduktionskontext und für die Anwendung im Forschungskontext aus, um die Technik zu verbessern, damit sie irgendwann auch zur gewünschten medizinischen Anwendung führt. An dieser Stelle geht das Argument von einem Einwand gegen (jetzige) KBI über zu einem Argument für (zukünftige) KBI. In Bezug auf KBI verschärfen sich Sicherheitsargumente, da man bei einer Vererbung der Veränderungen auf Nachkommen nicht nur ein Individuum, sondern viele Menschen einem gesundheitlichen Risiko aussetzt.

A) Menschenwürdeargumente wurden in zwei unterschiedlichen Versionen, einem speziellen und einem allgemeinen Sinn, gegen KBI vorgebracht: Die erste Version bezieht sich auf die Menschenwürde des Embryos selbst. Sie besagt, dass Embryonen in vitro nicht instrumentalisiert, d. h. nicht nur als Mittel benutzt werden dürfen (Kant), da sie bereits dieselbe Menschenwürde besitzen wie geborene Menschen. Es wird weiter argumentiert, dass die Veränderung der Gene (inkl. der Keimbahn) den Embryo instrumentalisiert. Diese Version basiert damit wiederum auf Argumenten über den moralischen Status von Embryonen in vitro, die begründen, warum Embryonen bereits Menschenwürde zukommt wie geborenen Menschen. Ohne entsprechende Argumente ist diese Annahme lediglich eine Behauptung. Begründet wird die Annahme eines starken moralischen Status von Embryonen in vitro durch ihre Spezieszugehörigkeit (Speziesargument), ihr Potenzial, sich zum Menschen zu entwickeln (Potenzialitätsargument), ihre Identität mit einem zukünftigen geborenen Menschen mit Menschenwürde (Identitätsargument) und den Umstand, dass die Embryonalentwicklung kontinuierlich verläuft und es somit nicht zulässig sei, einen späteren Zeitpunkt für die Zuschreibung von Menschenwürde anzunehmen (Kontinuitätsargument; zusammen sog. SKIP-Argu-

⁷Siehe hierzu auch Braun et al. 2018: 6 ff.

mente).⁸ Das Menschenwürdeargument in der ersten Version wird auch oft im Zusammenhang mit einem „Recht auf eine offene Zukunft“ (Feinberg 1980) oder einem „Recht auf Selbstbestimmung“ (basierend auf der fehlenden Autonomie und Zustimmungsfähigkeit von Embryonen) genannt (Reich et al. 2015: 20; Leopoldina et al. 2015). Die zweite Version bezieht sich dagegen allgemein auf die Menschenwürde von Menschen und basiert auf einem abstrakten Menschenbild bzw. der menschlichen Spezies als intrinsischem Wert (Reich et al. 2015: 21; Joerden et al. 2013; Rothhaar 2015). Es besagt, dass die menschliche Keimbahn nicht verändert werden darf, da man dadurch die Identität der Spezies verändern würde.

Gegen die erste Version kann man einwenden, dass die zugrundeliegende Annahme über die Menschenwürde von Embryonen in vitro hochumstritten ist. Insbesondere das Potenzialitätsargument, das als das stärkste der Argumente für diese Annahme gilt, wird in den letzten Jahren von Philosophen und Ethikern zunehmend kritisiert (siehe z. B. Schickl et al. 2014).⁹ Aber selbst, wenn man dieser Grundannahme folgt, bleibt der Einwand, dass die genetische Veränderung eines Embryos diesen nicht zugleich auch instrumentalisiert. Um als bloßes Mittel benutzt zu werden, müsste die Veränderung zugunsten Dritter durchgeführt werden, was nicht der Fall ist, wenn sie wie im diskutierten Fall für die Gesundheit des Embryos und damit zu seinen Gunsten durchgeführt wird. Anders sieht es dagegen beim genetischen Enhancement basierend auf den Wünschen der Eltern aus. Hier wird der Nachkomme und ggf. weitere Nachkommen nicht nur instrumentalisiert, sondern auch in seinen bzw. ihren eigenen Wahlmöglichkeiten eingeengt (siehe hierzu auch Birnbacher 2020: 39 f.). Entsprechend kann man mit einem Recht auf eine offene Zukunft nicht gegen die Heilung von Krankheiten argumentieren, sondern gegen Veränderungen im Bereich des Enhancements (wie die Festlegung des Aussehens oder der Fähigkeiten). Auch in Bezug auf ein Recht auf Selbstbestimmung ist zweifelhaft, ob der geborene Mensch sich später darüber beschweren würde, dass er geheilt wurde. Es muss im Fall von GE wie bei anderen gesundheitsbezogenen medizinischen Maßnahmen bei Einwilligungsunfähigen davon ausgegangen werden, dass er dem Eingriff zugestimmt hätte. Gegen die zweite Version des Menschenwürdearguments kann eingewendet werden, dass es so etwas wie *ein* menschliches Genom nicht gibt, es unterscheidet sich stark von Mensch zu Mensch (NASEM 2017). Aber selbst wenn es sich nicht unterscheiden würde, bleibt die Frage, warum

⁸Ausführlich zu den SKIP-Argumenten: Damschen/Schönecker 2003.

⁹Der wichtigste Einwand gegen das Potenzialitätsargument (PA) ist derzeit die sog. absurde Erweiterung („absurd extension argument“). Nach der logischen Methode *reductio ad absurdum* wird der Irrtum eines Arguments aufgedeckt, indem es in seinen Implikationen konsequent bis zu einer absurden Schlussfolgerung verfolgt wird. Bei PA wird darauf verwiesen, dass u. a. humane induzierte pluripotente Stammzellen und damit letztlich jede menschliche Körperzelle das gleiche Entwicklungspotenzial aufweisen wie menschliche Embryonen in vitro und daher nach PA in gleicher Weise, d. h. wie geborene Menschen, geschützt werden müssten.

dieses menschliche Genom einen so großen Wert haben sollte, dass es nicht einmal zur Heilung von Krankheiten geändert werden darf. Diese Argumentation fällt zum Teil zusammen mit der Folgenden.

B) Das Natürlichkeitsargument bezogen auf GE an menschlichen Embryonen *in vitro* bzw. KBI verweist auf die Natur als Wert an sich und leitet daraus eine generelle Unverfügbarkeit der genetischen Ausstattung ab. In einer theologischen Version wird auch gesprochen von unerlaubtem „Gottspielen“ durch Eingriffe in die Schöpfung (Dabrock 2009; Peters 2014). Dabei wird allerdings nicht ein Wert der Natur angenommen, sondern genauer ein Wert der *menschlichen* Natur, da i. d. R. mit diesem Argument nicht zugleich auch gegen die Veränderung der genetischen Ausstattung von Tieren argumentiert wird. Damit sind Natürlichkeitsargumente aber eigentlich getarnte Menschenwürdeargumente und zwar in der genannten zweiten Version. Darüber hinaus ist die Annahme, dass Natürlichkeit immer etwas Gutes ist, gerade in Bezug auf Krankheiten zu bezweifeln und daher auch schon lange stark umstritten (vgl. Birnbacher 2006). Konsequenterweise würde das Argument auch gegen jede andere (somatische) Therapie genetischer Krankheiten sprechen. So weit würden die meisten Vertreter aber nicht gehen.

C) Bezogen auf GE an menschlichen Embryonen *in vitro* bzw. KBI beziehen sich Dambruchargumente (Reich et al. 2015: 20/21) vor allem auf die Gefahr einer genetischen Eugenik, die dann zu Designerbabys, Enhancement und „Menschenzüchtung“ führen würden, auf eine durch eine Zulassung motivierte gesellschaftliche Diskriminierung kranker und behinderter geborener Menschen (Leopoldina et al. 2015; Lanphier et al. 2015) und auf einen möglichen ungleichen Zugang zu bestehenden Therapien aufgrund z. B. der Kosten. Dambruchargumente kritisieren nicht die Anwendung von GE an menschlichen Embryonen an sich als ethisch inakzeptabel, sondern sprechen sich gegen eine Zulassung aus aufgrund der ethisch (klar) inakzeptablen rechtlichen und sozialen Konsequenzen, von denen davon ausgegangen wird, dass eine Zulassung sie nach sich ziehen würde. Diese Struktur der Argumentation ist auch ihre größte Schwäche: Dambruchargumente sind Befürchtungen einer eintretenden Entwicklung und keine Argumente. Außerdem ist die implizite Annahme nicht überzeugend, dass Gesetze bzw. Verbote oder andere Regulierungen nicht ausreichend sind, um die Entwicklung von Technologien zu kontrollieren. Um die eigentlich ethisch inakzeptablen Entwicklungen zu verhindern, kann man entsprechend diese verbieten, anstatt eine andere ethisch akzeptable Technologie zu verbieten. Ferner kann der Wunsch nach einem eigenen gesunden Kind nicht mit der Diskriminierung geborener kranker und behinderter Menschen gleichgesetzt werden. Der Wunsch kann auch aus der Anerkennung der mit Krankheit und Behinderung einhergehenden Schwierigkeiten und dem Respekt für Betroffene resultieren. Auch eine prognostizierte gesellschaftliche Entwicklung hin zu einer Diskriminierung von kranken und behinderten Menschen aufgrund der

(sicherlich) abnehmenden Zahl an Betroffenen, ist vor dem Hintergrund des generell gesteigerten Bewusstseins und der Bemühungen um und Entwicklungen im Bereich Inklusion in den letzten Jahrzehnten unwahrscheinlich. Ein ungleicher Zugang zu Therapien ist schließlich regulierbar und besteht im Übrigen auch heute schon bei anderen medizinischen Maßnahmen, die dennoch akzeptiert werden.

18.2.2 Ethischer Einwand gegen *jetzige* Keimbahninterventionen/Argument für *zukünftige* Keimbahninterventionen

D) Das stärkste (ethische und rechtliche) Argument gegen die Anwendung von GE an menschlichen Embryonen in vitro bzw. KBI vor allem im Reproduktionskontext ist das Sicherheitsargument. Das Argument ist nicht prinzipiell, weil es grundsätzlich nur gegen den Anwendungskontext, nicht aber gegen den Forschungskontext, spricht. Es geht davon aus, dass GE in seinen möglichen Nebenwirkungen und Langzeiteffekten auf die embryonale und spätere Entwicklung – jedenfalls *noch* – zu unvorhersehbar ist für die Anwendung an Embryonen im Reproduktionskontext; erst recht, wenn sich die Veränderungen auch auf Nachkommen vererben. Das Sicherheitsargument ist daher *temporär*. Die Basis des Arguments ist das ethische Nichtschadensprinzip bzw. das Grundrecht auf körperliche Unversehrtheit (Art. 2 Abs. 2 GG). Dass sich die Sicherheit des Verfahrens mit dem ersten Umbruch in der Debatte hin zu einer klinischen Anwendung als Hauptargument durchgesetzt und seitdem an Gewicht gewonnen hat, hängt u. a. mit einer inzwischen breiten Ablehnung der genannten prinzipiellen Einwände gegen die Nutzung von GE an menschlichen Embryonen in vitro bzw. KBI zusammen. Es besteht weitgehend internationaler Konsens darüber, dass GE an menschlichen Embryonen in vitro bzw. KBI angewendet werden sollten, sobald das Verfahren „hinreichend sicher“ ist. Damit geht es nur mehr um eine Kosten-Nutzen-Abwägung zwischen dem potenziellen Nutzen und potenziellen Risiko für den veränderten Embryo – und dessen Nachkommen. Ein Restrisiko wird dabei bewusst in Kauf genommen. „Hinreichend sicher“ suggeriert, dass das Verfahren erst eingesetzt wird, wenn keine oder vernachlässigbare Risiken bestehen, das ist aber nicht der Fall. Diese Entwicklung in der ethischen Debatte ist erstaunlich vor dem Hintergrund, dass Keimbahneingriffe wie auch das reproduktive Klonen am Menschen jahrzehntelang breit abgelehnt wurden. Es hat den Anschein, die grundlegende Debatte um die Zulässigkeit des Verfahrens wurde – sicherlich beschwingt von einem gewissen Enthusiasmus über die medizinischen Möglichkeiten – verdrängt durch die Ausgestaltung der technischen Machbarkeit. Dabei bestehen auch gegen das temporäre Sicherheitsargument zwei gewichtige ethische Einwände:

18.2.3 Ethische Einwände gegen zukünftige Keimbahninterventionen

1. Da keine klinischen Studien möglich sind und sich „hinreichend sicher für den Menschen“ nur vage aus Tierversuchen ableiten lässt, sind die ersten Anwendungen am Menschen notwendigerweise „Menschenversuche“. Dieser Punkt gilt natürlich auch für die ersten Anwendungen anderer medizinischer Verfahren wie z. B. Organtransplantationen. Auch die ersten In-vitro-Fertilisationen (IVF) waren in diesem Sinne Menschenversuche. Zwar ist es in der Medizin gängige Praxis, Ergebnisse aus Tierversuchen auf den Menschen zu übertragen und Techniken anzuwenden, ohne dass sie vorher in klinischen Studien an Menschen geprüft werden können. Allerdings ist unser Wissen über Gene, ihr komplexes Zusammenspiel im Körper sowie ihre Rolle und ihren Einfluss im Verlauf der Entwicklung und von Krankheiten noch recht jung und unvollständig. Die Erfahrungen der letzten 40 Jahre aus der somatischen Gentherapie, die zum Teil heute noch in klinischen Studien zu unerwarteten Nebenwirkungen führen (siehe Morgan et al., Kap. 3; Fehse 2021), haben gezeigt, dass Wechselbeziehungen selbst in geborenen Menschen noch nicht hinreichend verstanden werden. Dieses Problem wird um ein Vielfaches vergrößert bei ungeborenem Leben. Aufgrund des Mangels an Forschungsobjekten steht die Forschung hier erst am Anfang und die menschliche Embryonalentwicklung stellt daher immer noch eine „Blackbox“ dar (Bartfeld et al. 2020: 19). Erst die Erfahrung wird zeigen, wie sich genmodifizierte Embryonen und Kinder tatsächlich entwickeln.¹⁰ Das lässt sich nur schwer aus Tierversuchen vorhersagen. Im Unterschied zu anderen medizinischen Anwendungen können Genmodifikationen durch GE an menschlichen Embryonen in vitro zudem jede Zelle des sich entwickelnden Körpers betreffen, sind nicht rückgängig zu machen und es kann nicht ausgeschlossen werden, dass sie auch auf Nachkommen vererbt werden (Birnbacher 2018: 63). Diese Problematik macht die Anwendung von GE im Reproduktionskontext deutlich komplexer, schwerer zu kontrollieren und weitreichender in ihren Auswirkungen (sowohl für das modifizierte Individuum als auch durch die mögliche Weitergabe an weitere Individuen) als andere und zum Teil bereits bestehende medizinische Verfahren und die Risiken somit *unabschätzbar*.

2. Angesichts dessen ist es von entscheidender Bedeutung, dass für die Anwendung von GE an menschlichen Embryonen eine alternative und nachgewiesen nicht nur sicherere, sondern sichere, d. h. nebenwirkungsfreie, Technik existiert.¹¹ Bei der Präimplantationsdiagnostik (PID) werden Embryonen in vitro meist am 3. Tag nach der IVF auf genetische Krankheiten untersucht. Danach werden nur die gesunden Embryonen auf die Mutter übertragen. Die PID ermöglicht es damit in

¹⁰ „Die genauen Auswirkungen der genetischen Veränderung eines Embryos lassen sich möglicherweise erst nach der Geburt feststellen“ (Lanphier et al. 2015: 411).

¹¹ Die IVF birgt gewisse gesundheitliche Risiken sowohl für die Frau als auch für das Kind, sie ist aber auch beim GE notwendig.

Verbindung mit der IVF, genetisch vorbelasteten Paaren ein eigenes gesundes Kind zu bekommen, und ist seit 2011 auch in Deutschland zugelassen. Aus diesem Grund wurde infrage gestellt, ob überhaupt eine medizinische Indikation für die Anwendung von GE an Embryonen in vitro im Reproduktionskontext besteht (u. a. Lanphier et al. 2015; Lander 2015; Lundberg und Novak 2015).

Gegen den Vorzug der PID werden von Befürwortern einer zukünftigen Anwendung von GE zwei Einwände vorgebracht, die zum einen auf die moralischen Implikationen der PID und zum anderen auf ihre Anwendungslimitationen abheben. a) Der moralische Einwand liegt auf der Hand und ist der Hauptgrund, warum die PID, die inzwischen in vielen Ländern zugelassen ist, von manchen abgelehnt wird. Bei der PID wird ein Embryo verworfen, bei GE dagegen „geheilt“ (u. a. Gyngell et al. 2017: 501; Steffann et al. 2018).¹² Der Nutzen ist bei beiden Verfahren gleich: ein gesundes Kind. Der offensichtliche Unterschied ist, dass bei der PID ein *anderes Kind* entsteht und bei GE *dasselbe Kind* geheilt wird.¹³ Eine entsprechende moralische Entscheidung zwischen Tod und Leben in Bezug auf den Embryo bzw. Nichtexistenz und Gesundheit in Bezug auf das zukünftige Kind scheint moralisch nicht schwer zu treffen. Allerdings werden bei dieser Betrachtung die Risiken von GE ignoriert. Diese sind bei beiden Verfahren fast konträr, von keinem Risiko bei der PID zu unabschätzbaren Risiken bei GE. Zum einen nutzen PID und GE in ihrer Komplexität grundunterschiedliche Verfahren: Bei der PID werden aus der Blastozyste lediglich ein bis zwei Zellen zur Untersuchung entnommen, während bei CRISPR/Cas unterschiedliche Komponenten (i. d. R. eine Endonuklease wie z. B. Cas9, die DNA-Sequenzen erkennen und schneiden kann, und eine Guide-RNA, die das Schneideprotein an die Stelle führt) in die Blastozyste injiziert werden, die dann erst einmal den richtigen Ort finden (wobei es zu Off-Target-Effekten kommen kann)¹⁴ und dort richtig wirken müssen (wobei es zu On-Target-Effekten kommen kann).¹⁵ Zu den Risiken der Technik kommen die Risiken, die sich aus

¹²Hiergegen wurde eingewendet, dass auch bei GE weiterhin PID notwendig bleiben wird (zuerst zur notwendigen Voruntersuchung der Embryonen und dann zur Kontrolle des erfolgten GE) und auch die Forschung an GE zu mehr verworfenen Embryonen führen wird (u. a. Ranisch 2019: 66), das trifft das Argument aber nicht unbedingt. Worauf von den Befürwortern oft abgezielt wird, ist, dass das Verwerfen von Embryonen durch GE *langfristig gesehen* abnehmen wird. Das lässt sich kaum abschätzen, kann daher aber auch nicht bestritten werden, weshalb hier im Sinne eines „benefit of the doubt“ von der Richtigkeit der Annahme ausgegangen wird.

¹³Tatsächlich werden für eine IVF immer mehrere Eizellen befruchtet und auch bei einem möglichen GE werden natürlich zunächst diejenigen Embryonen, die durch eine PID als gesund befunden wurden, eingesetzt. Der Fall, dass ein Embryo geheilt wird, kann daher streng genommen nur auftreten, wenn z. B. kein gesunder Embryo verfügbar ist oder der Einsatz der gesunden Embryonen nicht erfolgreich war. Außerdem wird auch der genomeditierte Embryo nur eingesetzt, wenn er eine Kontroll-PID bestanden hat.

¹⁴Als Off-Target-Effekte werden Veränderungen an ungewollten Stellen der DNA bezeichnet.

¹⁵Als On-Target-Effekte wird das unbeabsichtigte Einfügen von DNA an der richtigen Stelle bezeichnet.

dem genannten unvollständigen Wissen und den weitreichenden Auswirkungen ergeben. Aus diesen Risiken leitet sich ab, dass die moralische Entscheidung nicht zwischen „toter Embryo bzw. niemals geborenes Kind“ auf der einen Seite und „geheilter Embryo bzw. gesundes Kind“ auf der anderen Seite getroffen werden muss, sondern viel mehr zwischen „toter Embryo bzw. niemals geborenes Kind“ und „möglicherweise (schwer) geschädigter Embryo bzw. möglicherweise (schwer) krankes Kind“ (Tod/Nichtexistenz vs. Leid/Krankheit). Damit steht das angenommene Lebensrecht des Embryos dem Recht auf körperliche Unversehrtheit des zukünftigen Kindes entgegen. Die ethische *Kernfrage* bei der Entscheidung zwischen der Anwendung von GE und der Durchführung einer PID ist demnach, ob Embryonen in vitro ein Lebensrecht zukommt oder ob sie prinzipiell ersetzbar sind. Zur Veranschaulichung unserer moralischen Intuitionen in Bezug auf diese Frage wird im Folgenden ein *Gedankenexperiment*¹⁶ in zwei Szenarien vorgestellt:

Szenario 1:

1) Eine Frau leidet an einer Krankheit.

1a) Wenn sie jetzt schwanger wird, wird ihr Kind A unter einer dauerhaften gesundheitlichen Beeinträchtigung leiden.

1b) Wenn sie die Schwangerschaft um ein paar Monate aufschiebt, bis sie wieder gesund ist, wird ihr Kind B normal gesund zur Welt kommen.

Szenario 2:

2) Eine Frau leidet an einer Krankheit und ist seit 5 Tagen schwanger.¹⁷

2a) Wenn sie ihr Kind C bekommt, könnte es unter einer dauerhaften gesundheitlichen Beeinträchtigung leiden.

2b) Wenn sie ein nidationshemmendes Mittel einnimmt und ihre Schwangerschaft verschiebt, bis sie wieder gesund ist, wird ihr Kind D normal gesund zur Welt kommen.

Wir haben starke moralische Intuitionen, dass Szenario 1b) moralisch richtig ist. Wir können diese Bewertung dabei nicht dadurch begründen, dass es besser für Kind A ist, da Kind A in diesem Fall gar nicht existiert. Die meisten haben auch für Szenario 2 starke moralische Intuitionen, dass 2b) moralisch richtig ist, obwohl es auch hier nicht besser wäre für Kind C. Der Grund für diese moralische Bewertung kann dabei nur darin liegen, dass wir zum einen dem wenige Tage alten Embryo kein Lebensrecht zuschreiben, sondern ihn für *ersetzbar* halten, und zum anderen grundsätzlich Gesundheit (als etwas Gutes) Krankheit (als etwas zu Vermeidendes)

¹⁶Das Gedankenexperiment ist eine Abwandlung von Derek Parfits Gedankenexperiment „The pregnant woman“ (1986).

¹⁷So früh können Schwangerschaften i. d. R. noch gar nicht festgestellt werden.

vorziehen.¹⁸ Szenario 2 und die Entscheidung zwischen der Anwendung von GE und der Durchführung einer PID sind dabei analog: Der Embryo in 2) befindet sich in demselben Entwicklungsstadium wie ein Embryo, bei dem GE oder eine PID angewendet wird. 2a) ist analog zu der Anwendung von GE mit einem bleibenden gesundheitlichen Restrisiko. 2b) ist analog zu der Durchführung einer PID. Die ethische Bewertung von Szenario 2 ist daher auf die Entscheidung zwischen der Anwendung von GE und der Durchführung einer PID *übertragbar*.

Nur unter der Voraussetzung, dass Embryonen in vitro ein Lebensrecht besitzen, ist die Anwendung von GE (unter Inkaufnahme eines gesundheitlichen Restrisikos für das zukünftige Kind) einer PID ethisch vorzuziehen. Besitzen sie aber ein Lebensrecht, dürften sie auch nicht für die Forschung verwendet werden, um die Technik für eine spätere klinische Anwendung zu verbessern. Dass davon ausgegangen wird, dass langfristig gesehen mehr Embryonen gerettet werden, ist bei der Annahme eines Lebensrechts irrelevant, da ein Lebensrecht gerade nicht durch politische Strategien außer Kraft gesetzt werden kann, das ist der wesentliche Sinn eines Lebensrechts. Der aktuelle internationale Konsens ist daher in sich widersprüchlich. Vor diesem Hintergrund verwundert es, dass Gremien, die sich seit Jahren für die Forschung mit Embryonen in vitro (zugunsten der Forschung) aussprechen, jetzt auch GE im Reproduktionskontext (zugunsten von Embryonen) propagieren.

b) Der zweite von Befürwortern einer zukünftigen Anwendung von GE vorgebrachte Einwand gegen den Vorzug der PID bezieht sich auf ihre Anwendungs-limitationen: Da die PID nur gesunde Embryonen erkennen und auswählen kann, ist sie nicht für Paare geeignet, die die krankheitsrelevanten genetischen Veränderungen an alle Embryonen übertragen (Gyngell et al. 2017). Das ist vor allem der Fall, wenn beide potenziellen Elternteile homozygot für eine autosomal-rezessive Erkrankung sind (z. B. bei der zystischen Fibrose) oder ein potenzieller Elternteil homozygot für eine autosomal-dominante Erkrankung ist (z. B. bei Morbus Huntington). Der Einwand ist demnach, dass die PID den medizinischen Bedarf nicht deckt. Das ist wohlgerne kein Argument für die breite Anwendung von GE im Reproduktionskontext, sondern nur für diese Fälle. Dabei ist die Anzahl der Fälle an sich bereits sehr klein und die Anzahl an betroffenen Paaren, die eine IVF in Anspruch nehmen möchten, wird noch geringer sein. Es kann eingewendet werden, dass diese Konstellationen dennoch nicht ignoriert werden können (Ranisch 2019: 68). In diesem Fall bleiben aber immer noch die oben genannten unabschätzbaren Risiken von GE im Reproduktionskontext. Selbst wenn keine Alternative besteht, ist es basierend auf dem Nichtschadensprinzip und dem Recht auf körperliche Un-

¹⁸Es müssen nicht alle diese moralische Intuition teilen; damit das Gedankenexperiment funktioniert, genügt eine Mehrheit. Natürlich kann es sein, dass manche (vermutlich verhältnismäßig eher wenige) die Intuition haben, dass 2a) moralisch richtig ist. Das liegt dann an der Annahme eines starken moralischen Status ab der Befruchtung, auf die im Folgenden eingegangen wird. Möglich ist auch, dass zwar 2b), die Einnahme nidationshemmender Mittel, für moralisch richtig empfunden wird, aber dennoch nicht die Durchführung einer PID. In diesem Fall wird ein unterschiedlicher moralischer Status für Embryonen in vivo (schwach) und Embryonen in vitro (stark) angenommen. Wo sich eine Entität befindet, kann aber moralisch nicht relevant sein dafür, welcher Schutz ihr zukommt.

versehrtheit ethisch unverantwortlich, Menschen einem derartigen Risiko auszusetzen. Wenn Gesundheit als Gut (mitunter als Recht) verstanden wird, ist zu erwägen, ob ein nicht leibliches gesundes Kind in diesen seltenen Fällen nicht einem evtl. durch GE geschädigten leiblichen Kind – und ggf. darüber hinaus auch dessen Nachkommen – ethisch vorzuziehen ist.¹⁹ Sollte es ein moralisches oder sogar (verfassungs-)rechtliches Recht auf leiblichen Nachwuchs geben, geht es jedenfalls nur so weit, wie der Nachwuchs dadurch keine Schäden erleidet.

18.3 Konklusion

Die beiden ethischen Einwände, die gegen zukünftige Keimbahninterventionen vorgestellt wurden (1. unabschätzbare Risiken und 2. PID als Alternative), können zusammengefasst werden als *substanzielles Sicherheitsargument*. Die erste Frage, die sich bei der Option eines neuen medizinischen Verfahrens immer stellt, ist, ob bereits medizinische Alternativen bestehen, die dem Bedarf nachkommen können. Falls ja, müssen die Chancen und Risiken beider Verfahren gegeneinander abgewogen werden. Da in der PID eine risikofreie Alternative für denselben Bedarf vorliegt, muss sie einer Anwendung von GE vorgezogen werden. Mit anderen Worten: Solange auch nur ein *geringes gesundheitliches Restrisiko* bestehen bleibt (was nie auszuschließen ist), ist eine PID *immer* der Anwendung von GE vorzuziehen. Daher ist das Sicherheitsargument in dieser Version nicht mehr temporär zu verstehen, sondern substanziell (so auch Birnbacher 2018: 63).²⁰ Für die Leopoldina muss bei KBI „ein vertretbar niedriges Risiko [...] im Vergleich zur Erbkrankheit, die es zu vermeiden gilt, erreicht werden“ (2017: 8). Damit werden die Risiken der Krankheit mit den Risiken des Eingriffs abgewogen wie im Fall von Therapien bei Nichteinwilligungsfähigen, bei denen Risiken in Kauf genommen werden, weil man davon ausgehen kann, dass die Betroffenen der Anwendung selbst zustimmen würden. Somatische Gentherapien mit schweren Nebenwirkungen werden beispielsweise dennoch zugelassen, weil die Krankheitsverläufe i. d. R. schwerer und therapielos, d. h. tödlich, sind (Fehse 2021: 162). Bei einer vorhandenen medizinischen Alternative müssen die Risiken von GE allerdings mit denen der PID abgewogen werden. Und selbst, wenn es keine Alternative gäbe, wären die Risiken zu groß für eine Anwendung. Erst recht, wenn es bereits als vertretbar angesehen wird, wenn die Gesundheitsschäden lediglich kleiner sind als die der vermiedenen Krankheit: Das können immer noch immense Schäden sein. Die Sichtweise, die derartige Risiken bzw. Schäden als vertretbar ansieht, geht davon aus, dass das Kind sich später nicht beschweren kann, weil es andernfalls, d. h. wenn kein GE

¹⁹Ähnlich eine Minderheitsmeinung in DER 2019: 250/51.

²⁰Das substanzielle Sicherheitsargument ist dabei kein prinzipieller Einwand gegen GE an menschlichen Embryonen, weil es nur gegen den Anwendungs-, nicht auch gegen den Forschungskontext spricht. Birnbacher nutzt es allerdings auch prinzipiell, indem er einen Schritt weiter argumentiert, dass wenn wir Genome-Editing-Technologien nach dem substanziellen Sicherheitsargument nie anwenden können, es auch keinen Grund gibt, sie zu erforschen.

durchgeführt worden wäre, nicht gelebt hätte.²¹ Das Problem dieser Sichtweise ist, dass sich das Kind dann in keinem Fall beschweren kann, mit der Konsequenz, dass die Interessen des zukünftigen Kindes bei reproduktiven Entscheidungen generell nicht berücksichtigt werden müssen. Das schließt entsprechend z. B. auch genetisches Enhancement oder reproduktives Klonen mit ein, was breit abgelehnt wird. Die entgegengesetzte Sichtweise stellt dagegen Gesundheit als Gut in den Vordergrund und geht entsprechend davon aus, dass es besser ist, ein gesundes Kind zur Welt zu bringen als ein möglicherweise (schwer) geschädigtes. Das stellt ebenfalls die Basis unseres Gesundheitssystems dar. Auch in der Reproduktionsmedizin ging es bisher basierend auf dem konsequentialistischen²² Nichtschadensprinzip darum, Krankheit und Leid zu vermeiden. In Bezug auf GE hat sich diese ethische Argumentationsbasis inzwischen verkehrt hin zu einem bewussten Riskieren von Krankheit und Leid basierend auf einem deontologischen Lebensrecht von Embryonen in vitro. Der internationale Konsens in Bezug auf GE im Reproduktionskontext stellt insofern einen *ethischen Paradigmenwechsel* dar. Die Entscheidung für oder gegen eine Anwendung von GE an menschlichen Embryonen in vitro steht und fällt mit der jeweiligen zugrunde liegenden Position zum moralischen Status von Embryonen in vitro. Der Status wird gegen die Risiken abgewogen. Dabei fällt auf, dass die (zukünftigen) Risiken generell unterschätzt werden (z. B. im Vergleich zum reproduktiven Klonen) und bereits ein schwacher angenommener Embryonenschutz die Risiken (für den einzelnen geborenen Menschen und selbst für mögliche Nachkommen) zu überwiegen scheint. Beim reproduktiven Klonen besteht internationaler Konsens, dass das gesundheitliche Risiko für den geborenen Menschen zu groß wäre. Bei GE bzw. der KBI bleibt das gesundheitliche Risiko allerdings mindestens genauso groß, wenn nicht größer, da die angewandte Technik (z. B. somatischer Zellkerntransfer) verhältnismäßig weniger komplex ist als GE.²³

Mit dem substanziellen Sicherheitsargument kommt man zu der Position, dass die Anwendung von GE an Embryonen in vitro ethisch unverantwortlich ist (und bleibt). Das spricht nicht automatisch auch gegen den Forschungskontext, in dem GE an menschlichen Embryonen z. B. zu wichtigen Erkenntnissen in der Grundlagenforschung in Bezug auf Embryonalentwicklung und Krankheitsgenese führen kann.

Danksagung Ich danke Boris Fehse für wertvolle Kommentare zu einer früheren Version des Kapitels.

²¹Nach dem sog. „person-affecting view“ kann eine Handlung nur dann gut oder schlecht sein, wenn sie gut oder schlecht für jemanden ist. Nach dem „impersonal view“ dagegen kann eine Handlung auch gut oder schlecht sein, ohne gut oder schlecht für eine bestimmte Person zu sein.

²²Für die konsequentialistische Ethik sind die Handlungsfolgen ausschlaggebend für die moralische Bewertung einer Handlung, für die deontologische Ethik die Handlungstypen.

²³Beim somatischen Zellkerntransfer (der Technik, die auch bei dem berühmten ersten (Klon-) Schaf Dolly angewandt wurde), wird lediglich der Zellkern einer Körperzelle entnommen und in eine entkernte Eizelle eingesetzt. Nachdem die Gesundheitsschäden und Sterberate lange sehr hoch bzw. groß waren, gibt es inzwischen auch viele gesunde geklonte Tiere (Sinclair et al. 2016).

Literatur

- Baltimore D et al (2015) A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science* 348:36–38
- Bartfeld S et al (2020) Kernaussagen und Handlungsempfehlungen zu Organoiden. In: Bartfeld S et al (Hrsg) *Organotide. Nomos, Baden-Baden*, S 13–28
- Birnbacher D (2006) *Natürlichkeit*. de Gruyter, Berlin
- Birnbacher D (2018) Prospects of human germline modification by CRISPR-Cas9 – an ethicist’s view. In: Braun M et al (Hrsg) *Between moral hazard and legal uncertainty. Ethical, legal and societal challenges of gene editing*. Springer Fachmedien, Wiesbaden, S 53–66
- Birnbacher D (2020) Therapie und Enhancement in der Biomedizin – Leiden lindern oder den Menschen verbessern? In: Manzeschke A, Niederlag W (Hrsg) *Ethische Perspektiven auf Biomedizinische Technologie*. De Gruyter, Berlin, S 33–41
- Braun M et al (Hrsg) (2018) *Between moral hazard and legal uncertainty. Ethical, legal and societal challenges of gene editing*. Springer Fachmedien, Wiesbaden
- CCNE = Comité Consultatif National d’Éthique et al (2020) Joint Statement on the ethics of human heritable genome editing. Comité Consultatif National d’Éthique, Paris
- Dabrock P (2009) Playing god? Synthetic biology as a theological and ethical challenge. *Syst Synth Biol* 3:47–54
- Damschen G, Schönecker D (Hrsg) (2003) *Der moralische Status menschlicher Embryonen*. de Gruyter, Berlin
- DER = Deutscher Ethikrat (2017) *Keimbahn Eingriffe am menschlichen Embryo: Deutscher Ethikrat fordert globalen politischen Diskurs und internationale Regulierung*. Deutscher Ethikrat, Berlin
- DER = Deutscher Ethikrat (2019) *Eingriffe in die menschliche Keimbahn. Stellungnahme*. Deutscher Ethikrat, Berlin
- DG-GT= Deutsche Gesellschaft für Genterapie (2018) *Genom-editierten Babys in der VR China. Erklärung*. Unter: <https://www.dg-gt.de/post/genom-editierten-babys-in-der-vr-china>. Zugriffen am 23.10.2013
- EGE = European Group on Ethics (2016) *Statement on gene editing*. Publication Office of the European Union, Luxembourg
- EGE = European Group on Ethics in Science and New Technologies (2021) *Ethics of Genome editing*. Publication Office of the European Union, Luxembourg
- Fehse B (2021) *Themenbereich somatische Genterapie*. In: Fehse B et al (Hrsg) *Fünfter Genterapiebericht. Nomos, Baden-Baden*, S 156–183
- Fehse B et al (2021) *Genome-editing und Einzelzellanalyse*. In: Fehse B et al (Hrsg) *Fünfter Genterapiebericht. Nomos, Baden-Baden*
- Feinberg J (1980) The child’s right to an open future. In: Aiken W, LaFollette H (Hrsg) *Whose child? Children’s rights, parental authority, and state power*. Rowman and Littlefield, Totowa, S 124–152
- Gyngell C et al (2017) The ethics of germline gene editing. *Jl Appl Philos* 34:498–513
- Jinek M et al (2012) A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337:816–821
- Joerden JC et al (2013) *Menschenwürde und Medizin. Ein interdisziplinäres Handbuch*. Duncker & Humblot, Berlin
- Kaelin L (2018) *Debating genome editing technologies*. In: Braun et al (Hrsg) *Between moral hazard and legal uncertainty. Ethical, legal and societal challenges of gene editing*. Springer Fachmedien, Wiesbaden, S 187–201
- Lander ES (2015) Brave new genome. *N Engl J Med* 373:5–8
- Lanphier E et al (2015) Don’t edit the human germ line. *Nature* 519:410–411
- Leopoldina et al (2015) *Chancen und Grenzen des genome editing/The Opportunities and Limits of Genome Editing*. Halle (Saale)

- Leopoldina (2017) Ethische und rechtliche Beurteilung des Genome Editing in der Forschung an humanen Zellen. Diskussion Nr. 10. Halle (Saale)
- Liang P et al (2015) CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell* 6:363–372
- Lundberg AS, Novak R (2015) CRISPR-Cas gene editing to cure serious diseases: treat the patient, not the germ line. *Am J Bioeth* 15:38–40
- NASEM = National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2015) On human gene editing: international summit statement. Unter: <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=12032015a>. Zugegriffen am 24.10.2023
- NASEM = National Academy of Sciences, National Academy of Medicine (2017) Human genome editing: science, ethics and governance. The National Academies Press, Washington, D.C
- NASEM = National Academy of Sciences, National Academy of Medicine (2020) Heritable human genome editing. The National Academies Press, Washington, D.C
- NCoB = Nuffield Council on Bioethics (2015) Workshop on ethical and regulatory challenges in Genome editing. Nuffield Council on Bioethics, London
- NCoB = Nuffield Council on Bioethics (2018) Genome editing and human reproduction. Nuffield Council on Bioethics, London
- Parfit D (1986) *Reasons and persons*. Oxford University Press, Oxford
- Peters T (2014) *Playing god? Genetic determinism and human freedom*. Routledge, New York/London
- Ranisch R (2019) Germline genome editing versus preimplantation genetic diagnosis: is there a case in favour of germline interventions? *Bioethics* 34:60–69
- Reich J et al (2015) *Genomchirurgie beim Menschen – Zur verantwortlichen Bewertung einer neuen Technologie*. Medialis, Berlin
- Rothhaar M (2015) *Die Menschenwürde als Prinzip des Rechts: Eine rechtsphilosophische Rekonstruktion*. Mohr Siebeck, Tübingen
- Schickl H et al (2014) Rechtsethische und rechtspolitische Herausforderungen im Umgang mit induzierten pluripotenten Stammzellen. *Medizinrecht* 32:857–862
- Sinclair KD et al (2016) Healthy ageing of cloned sheep. *Nat Commun* 7:12359
- Steffann J et al (2018) Could failure in preimplantation genetic diagnosis justify editing the human embryo genome? *Cell Stem Cell* 22:481–482
- WHO = World Health Organization (2021) *Human Genome Editing: recommendations*. World Health Organization, New York

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Spotlight: Zu den Grenzen der Medizin und dem „Human Enhancement“

19

Heiner Fangerau

19.1 Grenzen der Medizin

Die Grenzen der Medizin sind ein beständiges Thema in der Geschichte der Literatur und der Popkultur ebenso wie in der medizinischen Ethik. Im Kern bezieht sich die Frage nach den Grenzen darauf, wann den Menschen betreffende Phänomene in medizinischen Kategorien gefasst, gedeutet und im Handeln adressiert werden sollen und dürfen. Aus historischer Sicht sind diese Grenzen nicht klar markiert, sondern in beständigem Fluss. Neue Techniken, wissenschaftliche Konzeptverschiebungen, gesellschaftlicher Wandel, ökonomische und politische Rahmenbedingungen sowie moralischer Wertewandel tragen dazu bei, dass vorher nicht medizinisch definierte Lebensbereiche dem Zugriff der Medizin eröffnet oder ehemals medizinisch definierte Phänomene nicht mehr auf medizinische Begriffe gebracht werden können. Ein prominentes Beispiel bietet die Homosexualität, die noch im ausgehenden 20. Jahrhundert von der Weltgesundheitsorganisation nosologisch gefasst, d. h. als Krankheit beschrieben wurde, sich dann aber medizinischen Deutungsmustern und Praktiken entzog (Conrad und Angell 2004).

Eine Ausweitung der medizinischen Deutungshoheit wird soziologisch und historisch als Medikalisierung, ein Rückzug medizinischer Erklärungs- und Handlungsmuster als Demedikalisierung bezeichnet. Medikalisierungsprozesse erhalten dabei gelegentlich eine negative normative Rahmung, wenn sie etwa wie bei Ivan Illich Ende der 1970er-Jahre explizit im Sinne einer Gesellschaftskritik gefasst werden, die nahelegt, dass die Medizin illegitime Geld- und Machtinteressen verfolge, ohne mehr dem kranken Menschen zu dienen. Peter Conrad hingegen wirbt dafür, den Begriff allein deskriptiv zur Prozessbeschreibung zu benutzen (Conrad 2005).

H. Fangerau (✉)

Institut für Geschichte, Theorie und Ethik der Medizin, Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf, Düsseldorf, Deutschland

e-mail: heiner.fangerau@uni-duesseldorf.de

© Der/die Autor(en) 2024

B. Fehse et al. (Hrsg.), *Gen- und Zelltherapie 2.023 – Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-67908-1_19

283

Grenzverschiebungen lassen sich (mit Überschneidungen) dabei auf mindestens vier Ebenen beobachten: Neben einer Ausweitung bzw. Einengung von Diagnosegrenzen, z. B. dadurch, dass eine zunehmende oder schwindende Zahl von Lebensäußerungen als pathologische Zeichen gewertet werden, steht eine Entzeitlichung von Krankheit durch prädiktive oder präsymptomatische Diagnostik oder die Entwicklung von Risikokonzeptionen. Durch ihre Verbindung zu nur in ihrer jeweiligen Zeit gültigen pathologischen Merkmalen lässt sich historisch auch hier eine doppelläufige Dynamik nachzeichnen. Hinzu treten eine Ausweitung bzw. Eingrenzung der Therapie, wenn sich etwa die Schwelle der Risiko-Nutzen-Bewertung eines Eingriffs verschiebt und damit der Indikations- und Legitimationsbereich¹ eines spezifischen Eingriffs eine Erweiterung oder Einengung erfährt. Zuletzt lässt sich auch die Frage nach der Optimierung menschlicher Zustände in das Feld der Medikalierungs- und Demedikalierungsprozesse einordnen (Wehling et al. 2007).

Aus einer soziologischen und zeithistorischen Perspektive erscheint es so, als sei die Gegenwart vor allem durch Medikalierungsprozesse bestimmt. Ein Rückzug der Medizin aus früher sozial definierten Feldern ist zumindest nur in wenigen Bereichen zu konstatieren. Mehr noch radikalisieren sich die mit der Medikalierung beschriebenen Trends hin zu einer sog. Biomedikalierung (Estes und Binney 1989). Während für die Ausweitung der medizinischen Einflussphäre in der früheren Phase der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts der Begriff der Medikalierung angemessen schien, wird für die Zeit seit der Mitte der 1980er-Jahre für die westlichen Gesellschaften eine Biomedikalierung konstatiert. Gemeint ist damit, dass sich die Stoßrichtung der Medikalierung gewandelt habe vom Ziel einer Kontrolle über menschliche Phänomene hin zum Ziel ihrer biomedizinischen Transformation. Als Motoren dieser Entwicklung werden u. a. eine institutionelle Ausweitung der Medizin, eine konzeptionelle Fokusverschiebung von Krankheit und Therapie auf Gesundheit und Erhaltung, eine zunehmende Technifizierung und technisch-digitale Produktion und Durchdringung medizinischer Wissensbestände, veränderte Gesundheitsinformation und die Entwicklung neuer biomedizinisch geprägter Menschenbilder genannt (Clarke et al. 2003; Conrad 2005; Conrad und Bergey 2014). Die Grenzen des für „normal“ oder „gesund“ Gehaltene werden im Zuge dieser Entwicklung deutlich enger gezogen und es entsteht das Postulat zur Prävention, die wiederum dem Individuum obliegt. Das Individuum wiederum hat ein genuines Interesse, Prävention zu betreiben und sich so zu optimieren, dass es nicht Gefahr läuft, in den größer werdenden Bereich des Pathologischen zu fallen. Private Interessen, wirtschaftliche Interessen, politische Interessen und technische Entwicklung wirken hier zusammen. Ein Beispiel bietet die Optimierung des Blutdrucks im Zuge der Prävention mithilfe der technischen Überwachung und medikamentösen Behandlung (Fangerau und Martin 2014; Martin und Fangerau 2015).

¹Zur Indikation als Handlungsrahmen siehe u. a. Wiesing 2017.

19.2 Optimierung und Human Enhancement

Mit Blick auf Gentechnologien rücken vor allem die Entgrenzungsdimensionen der Entzeitlichung und Optimierung in den Blick. Die genetische Diagnostik kann Krankheitsrisiken vorhersagen und damit das medizinethisch viel diskutierte Problem der „gesunden Kranken“ oder „kranken Gesunden“ schaffen, wenn die Prädiktion etwa Lebensentwürfe radikal verändert und sich am Ende die auf Korrelationen beruhenden Einschätzungen nicht einstellen oder kausale Folgen einer genetischen Disposition sich zeitlich nicht kartieren lassen (Fangerau et al. 2017). Die Idee der genetischen Therapie durch somatische Genterapie oder Keimbahneingriffe wiederum ruft immer wieder Fragen nach der moralischen Zulässigkeit sowie nach den ethisch zu bewertenden Chancen und Risiken der Optimierung des Menschen als Individuum und als Gattung auf. Dabei kann das, was als genetische Optimierung begriffen werden muss, noch viel weiter gefasst werden und sich z. B. auch auf biosynthetisch hergestellte Pharmaka oder implantierbare Organoide erstrecken (Murray 2002). Die Bewertung der Chancen und Risiken sowie von moralischen Implikationen von Zukunftstechnologien bleibt dabei naturgemäß im Raum des Offenen und Unvorhersehbaren und wird geprägt durch Denkexperimente, Analogien sowie literarische oder andere (pop-)kulturelle Verarbeitungen, wobei gerade diese Rückgriffe auf die Welt der Ideen und Vorstellungen sehr hilfreiche Dystopien und Utopien des Machbaren für eine Einschätzung des Erwünschten offerieren (Linett 2020).

Die Diskussion über die moralische Un-/Zulässigkeit der Optimierung menschlicher Eigenschaften ist gleichzeitig auch nicht auf die Gentechnologie beschränkt, sondern wird für etliche andere Bereiche der Medizin diskutiert. Im ethischen Diskurs hat sich für die hier adressierte Verbesserung der Begriff des Human Enhancement durchgesetzt. Der Begriff changiert dabei zwischen einem sehr breiten Verständnis, das alle Handlungen einbezieht, die auf eine Optimierung von Eigenschaften zielen, wozu etwa auch Lesen oder Erziehung gehören, und einem engen Verständnis, das nur solche Maßnahmen einbezieht, die auf eine Steigerung von Fähigkeiten über das für den Menschen „speziestypische“ oder die „statistisch-normale“ Spannweite hinausgehen (Allhoff et al. 2010). Wie schwierig eine solche Abgrenzung im Einzelfall ist, verdeutlicht das Beispiel der Lesebrille: Wenn die Altersweitsichtigkeit als „speziestypisch“ und statistisch erwartbar betrachtet wird, wäre ihr Einsatz schon ein Enhancement im engeren Sinne. Eine weitere Abgrenzung wird hier gelegentlich zur medizinischen Therapie gezogen, was das Problem der moralischen Bewertung von Verbesserung zurückwirft auf die Frage, was in einer jeweiligen Gesellschaft als krank und gesund bzw. was als behandlungswerte Krankheit begriffen wird. Angesichts der geschilderten historischen Kontinenz der Grenzen von Krankheit und Gesundheit erscheint es problematisch, die moralische Bewertung von Enhancement hier universell an den Krankheitsbegriff zu koppeln. Eine solche Verbindung ist allenfalls für eine jeweils betrachtete Gesellschaft in ihrer Zeit zielführend.

Wenn es nun um die Frage geht, warum Menschen Möglichkeiten der Verbesserung ihrer Eigenschaften in Anspruch nehmen wollen, so liegt die Antwort auf der Hand. Sie wollen ihr eigenes Leben, ihr eigenes Erleben oder ihre Leistung ver-

bessern oder sie wollen im alltäglichen Wettstreit um Ressourcen und Reputation besser sein als andere Menschen. Studentinnen und Studenten gaben z. B. an, leistungssteigernde Medikamente einzunehmen, um ihre Konzentrationsfähigkeit und Aufmerksamkeit zu verbessern oder um zu entspannen (Mache et al. 2012) – wobei sich unmittelbar wieder die Abgrenzungsfrage zur Therapie stellt, wenn Konzentrationsstörungen als krankhaft empfunden werden (siehe oben). Befürworter des Enhancement vertreten hier den Standpunkt, dass es jedermanns autonome Entscheidung sei, ob Verbesserungstechnologien in Anspruch genommen werden. Werden Optimierungsentscheidungen für andere Personen, z. B. die eigenen Kinder oder kommende Generationen (z. B. bei der Keimbahnintervention; siehe Schickl, Kap. 18) getroffen, gilt der Rückbezug auf die Autonomie der Entscheidenden nur bedingt, da sie ja in die Autonomie der Betroffenen, die (noch) nicht selbst entscheiden können, für diese selbst am Ende evtl. nicht korrigierbar, eingreifen. Diesem Bedenken halten wiederum einige Autoren entgegen, dass im Gegensatz zur Vorsicht sogar die Pflicht zur Inanspruchnahme von pränataler Diagnostik, Präimplantationsdiagnostik und Gentherapie bestehe, wenn etwa durch die Inanspruchnahme das Wohlbefinden der Betroffenen gesteigert werden könne (Savulescu und Kahane 2009). Hier sei die moralische Verpflichtung zum Enhancement vergleichbar mit der zur Prävention und Behandlung von Krankheiten (Savulescu 2009).

Die nach ihrer Motivation für Enhancement befragten Studentinnen und Studenten nannten allerdings auch die Sorge, Nachteile gegenüber Konsumenten zu haben, wenn sie selbst keine Mittel einnähmen und den äußeren Druck, Leistung bringen zu müssen (Mache et al. 2012). Die beiden zuletzt genannten Gründe verweisen darauf, dass der Wunsch nach einem Enhancement nicht immer nur aus einer autonomen Entscheidung einer einzelnen Person heraus erwachsen, sondern sich auch aus der sozialen Relation heraus ergeben kann. Carl Elliot etwa sieht hier die Gefahr eines Looping-Effekts, der sich daraus ergeben könnte, dass durch den Einsatz von Technologien zum Enhancement ein Druck zur Nutzung auch auf Personen ausgeübt werde, die andernfalls nicht zu Mitteln der (Selbst-)Verbesserung greifen würden (Elliott 2019). Angesichts potenziell körperlich schädlicher Effekte ist ein solcher sozialer Druck, der dann am Ende eventuell zur Schädigung des eigenen Körpers, des Selbst und der Identität führen kann, als problematisierender Faktor in der Debatte durchaus ernst zu nehmen. Im Sport etwa wird diese Spannung im Umfeld des Dopings diskutiert, wobei mit Rekurs auf die Autonomie der Athleten zur Debatte steht, ob ein Verbot des Dopings als paternalistisch abzulehnen ist oder nicht (Breitsameter 2017).

Auf die sozialetischen Folgen konzentrieren sich auch die Hauptbedenken gegen ein mögliches Human Enhancement. Es herrscht die Sorge vor, dass der Einsatz bestehende Ungerechtigkeiten in der Gesellschaft noch verstärken könnte, wenn die Möglichkeiten zur Verbesserung nicht allen Menschen in gleicher Weise zur Verfügung stünden oder nicht von allen genutzt werden wollten. Aus einer eher leistungsorientierten Perspektive wird die (bio-technische) Optimierung als unvernünftig, eitel und zu einfach kritisiert. Auch hier schließen sich viele Vergleiche zwi-

schen Enhancement und Sportdoping an. Nicht zuletzt wird in Frage gestellt, ob die technische Verbesserung des Menschen über eine naturgemäße Leistungsspanne hinaus nicht die menschliche Natur als solche verletze und sich daher verbiete (Caplan und Elliott 2004).

Gerade die Natürlichkeit als Referenzpunkt von „Antimelioristen“ erfuhr einige Kritik. Da die menschliche Natur sowohl gute als auch schlechte Seiten mit sich bringe, gebe es keinen Grund, die schlechten Aspekte nicht beseitigen zu wollen. Ferner sei es keineswegs zwingend, dass die Veränderung der menschlichen Natur zum Verlust von Konzeptionen des Guten führe. Somit sei der Bezug auf die Natürlichkeit in der moralischen Abwägung eher verschleiern als hilfreich (Buchanan 2009).

Vor dem Hintergrund dieser Diskussion bleiben vor allem die sozialetischen Probleme der Gerechtigkeit und der möglichen Abwertung und Stigmatisierung derer virulent, die keine Verbesserungstechniken in Anspruch nehmen wollen oder können. So wird – wie auch bei der Zuteilung von Therapien – die Gefahr gesehen, dass durch eine ungleiche Verteilung von Enhancement-Techniken Menschen abgewertet und in ihrer Verletzlichkeit stigmatisiert werden, wenn Gesellschaftsverhältnisse und Haltungen z. B. zur Behinderung sich im Vergleich zur Gegenwart nicht ändern oder sogar in eine diskriminatorische Richtung verschärfen (Meuser 2022), was allerdings auch nahelegt, dass die Chance besteht, solchen Trends gesellschaftlich entgegenzuwirken (Chaproniere 2022).

In diese Richtung argumentieren auch Stimmen, die nahelegen, dass Enhancement eben nicht notwendigerweise zu Ungerechtigkeit führen muss, wenn entsprechende Technologien nach Bedarf verteilt werden und genauso einer Bedarfsgerechtigkeit dienen. Außerdem, so argumentiert Ronald Lindsay, sei es zielführender, sich über Ungerechtigkeiten in bestehenden Gesellschaften Gedanken zu machen als auf ungewisse mögliche Ungerechtigkeiten in einer unbekanntem Zukunft zu zielen (Lindsay 2005). Das aber schließt selbstredend weitere Diskussionen über die Chancen, Risiken und moralischen Dimensionen von Enhancement-Technologien nicht aus.

19.3 Schluss

Insgesamt ergeben sich in der Debatte um das Enhancement eine Reihe von Abgrenzungsproblemen, die bei der Frage beginnen, wo Enhancement beginnt und bei der Frage enden, ob Enhancement – und wenn ja, in welchen Fällen – zulässig sei. Aus medizinischer Sicht ist hier die konzeptionelle Ebene der Grenzziehung zwischen Gesundheit und Krankheit ebenso relevant wie die gesellschaftliche Ebene, die nach sozioökonomischen Push- und Pull-Effekten von Enhancement in der sozialen Interaktion fragt. Nicht zuletzt spielt auch die strukturelle Ebene eine Rolle, die politische und institutionelle Rahmen vorgibt, nach denen sich aus einer Systemperspektive der Einsatz einer biomedizinischen Technik in einer Pfadabhängigkeit aufdrängt oder nicht. Die ethische Bewertung wiederum konzentriert sich darauf,

ob durch eine als Enhancement begriffene Technologie die betreffende Person anerkannt oder abgewertet oder in ihrer Selbstkonstitution gestärkt oder geschwächt wird. Jenseits aller Dogmatik ist derzeit auch hier eine allgemeine Grenzziehung schwierig, sodass das Enhancementproblem für den Moment (historisch) kontingent bleibt.

Literatur

- Allhoff F et al (2010) Ethics of human enhancement: 25 questions & answers. *Studies ethics law technol* 4:20121004
- Breitsameter C (2017) How to justify a ban on doping? *JME* 43:287–292
- Buchanan A (2009) Human nature and enhancement. *Bioethics* 23:141–150
- Caplan A, Elliott C (2004) Is It ethical to use enhancement technologies to make us better than well? *PLoS med* 1:e52
- Chaproniere L (2022) Is enhancement inherently ableist? *Bioethics* 36:356–366
- Clarke AE et al (2003) Biomedicalization: technoscientific transformations of health, illness, and U.S. biomedicine. *Am Sociol Rev* 68:161–194
- Conrad P (2005) The shifting engines of medicalization. *J Health and Soc Behav* 46:3–14
- Conrad P, Angell A (2004) Homosexuality and remedicalization. *Society* 41:32–39
- Conrad P, Bergey MR (2014) The impending globalization of ADHD: notes on the expansion and growth of a medicalized disorder. *Soc Sci and Med* 122:31–43
- Elliott C (2019) The looping effects of enhancement technologies. *J Bioeth Inq* 16:127–131
- Estes CL, Binney EA (1989) The biomedicalization of aging: dangers and dilemmas. *Gerontologist* 29:587–596
- Fangerau H, Martin M (2014) Blutdruck messen: Die „Technikalisierung“ der Kreislaufdiagnostik. In: Technomuseum (Hrsg) *Herzblut. Geschichte und Zukunft der Medizintechnik*. Theiss/WBG, Darmstadt
- Fangerau H et al (2017) Predictive diagnostic testing for late-onset neurological diseases in asymptomatic minors: do no harm and the value of knowledge. In: Gadebusch-Bondio M et al (Hrsg) *Medical ethics, prediction, and prognosis: interdisciplinary perspectives*. Routledge, New York/London
- Lindsay RA (2005) Enhancements and justice: problems in determining the requirements of justice in a genetically transformed society. *Kennedy Inst of Ethics J* 15:3–38
- Linett MT (2020) *Literary bioethics. Animality, disability, and the human*. New York University Press, New York
- Mache S et al (2012) Cognitive-enhancing substance use at German universities: frequency, reasons and gender differences. *Wien Med Wochenschr* 162:262–271
- Martin M, Fangerau H (2015) Technische Medikalisation in einer alternden Gesellschaft: Instrumentelle Rahmen und normative Folgen am Beispiel präventivmedizinischer Ansätze. In: Weber K et al (Hrsg) *Technisierung des Alltags. Beitrag für ein gutes Leben?* Steiner, Stuttgart
- Meuser S (2022) *Behinderung und Enhancement. Eine Analyse ethischer Positionen*. Julius Klinkhardt, Bad Heilbrunn
- Murray TH (2002) Reflections on the ethics of genetic enhancement. *Genet Med* 4:27–32
- Savulescu J (2009) Genetic interventions and the ethics of enhancement of human beings. In: Steinbock B (Hrsg) *The Oxford handbook of bioethics*. Oxford University Press, Oxford
- Savulescu J, Kahane G (2009) The moral obligation to create children with the best chance of the best life. *Bioethics* 23:274–290
- Wehling P et al (2007) Zwischen Biologisierung des Sozialen und neuer Biosozialität: Dynamiken der biopolitischen Grenzüberschreitung. *Berl J Soziol* 17:547–567
- Wiesing U (2017) *Indikation. Theoretische Grundlagen und Konsequenzen für die ärztliche Praxis*. Kohlhammer, Stuttgart

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Gentherapie und Genome-Editing im Blickpunkt internationaler Einstellungsforschung

20

Jürgen Hampel

20.1 Einleitung

Die Debatte um die Gentherapie, die die Schwelle von der Grundlagenforschung zur anwendungsorientierten Forschung wie auch zur klinischen Anwendung längst überschritten hat (siehe Kap. 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 und 16), bekam ein neues Momentum, als mit dem Genome-Editing (CRISPR/Cas9) die Präzision therapeutischer Maßnahmen und damit auch deren Bandbreite, was mögliche Anwendungen betrifft, erheblich gesteigert werden konnte (vgl. Reich et al. 2015). In den Bereich des Möglichen geraten damit aber auch ethisch problematische Anwendungen wie die Keimbahntherapie oder das genetische Enhancement. Schlagartig wurde dies einer globalen Öffentlichkeit klar, als der chinesische Wissenschaftler He Jiankui im November 2018 die Geburt zweier Säuglinge bekannt gab, die als Embryonen einer Keimbahntherapie unterzogen worden waren (Gießelmann 2018); eine Mitteilung, die weltweit heftige negative Reaktionen auslöste.¹ Befürchtungen wurden laut, dass dadurch die Forschung an Gentherapien mit CRISPR mit diesem Ereignis assoziiert wird (Normile 2018).

Möglichkeiten erweitern nicht nur Handlungsspielräume, sie zwingen dazu, Entscheidungen zu treffen. Darauf hat nicht zuletzt Ulrich Beck in seinem Buch „Risikogesellschaft“ hingewiesen (Beck 1986). Verhältnisse, die gegeben und unveränderbar waren, werden kontingent und damit entscheidungsabhängig. Auch zu einer Nichtentscheidung muss man sich entscheiden. Erweiterte technische Möglichkeiten zwingen, die Grenze zwischen dem Erlaubten und dem nicht mehr Erlaubten immer wieder neu zu ziehen. In modernen Gesellschaften werden solche

¹In China wurde He zu einer dreijährigen Gefängnisstrafe verurteilt (Normile 2019).

J. Hampel (✉)

Institut für Sozialwissenschaften, Universität Stuttgart, Stuttgart, Deutschland
e-mail: juergen.hampel@sowi.uni-stuttgart.de

Grenzziehungen in erster Linie durch politische Entscheidungen getroffen, Entscheidungen, die eingebunden sind in gesellschaftliche Debatten, in vielerlei Formen und in unterschiedlichen Arenen (Albrecht et al. 2021).

In den Jahren 2008 und 2011 hat sich die interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gen-technologiebericht* der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften (BBAW) in Themenbänden mit der Gentherapie auseinandergesetzt (Hucho et al. 2008; Fehse und Domasch 2011) und im Rahmen dieser interdisziplinären Betrachtungen auch die gesellschaftlichen Reaktionen zur Gentherapie erörtert (Hampel 2008, 2011). Die Arbeitsgruppe *Gen-technologiebericht* am Berlin Institute of Health (BIH), die aus dieser Gruppe hervorging, setzt diese Arbeiten fort.

Dieser Beitrag wird sich mit den verschiedenen Aspekten des Genome-Editing beschäftigen, die in der internationalen Forschung behandelt werden, der Gentherapie, aber auch mit Verfahren wie der Keimbahntherapie und dem genetischen Enhancement, die stärker noch als die Gentherapie kontrovers diskutiert werden.

20.2 Theoretische und methodische Vorbemerkungen

20.2.1 Einstellungen

Gesellschaftliche Reaktionen können in vielen Arenen thematisiert werden: von politischen Debatten in Parlamenten über die Repräsentation von Themen und Positionen in den Medien bis hin zur aggregierten Erfassung der Einstellungen zu dem Thema in der Öffentlichkeit. Letzteres ist der Gegenstand dieses Beitrags.

Bevor wir uns der Frage der gesellschaftlichen Wahrnehmung der Gentherapie zuwenden, sollen zunächst einige begriffliche Klärungen vorgenommen werden.

Sozialwissenschaftliche Begriffe weisen häufig eine Nähe zu alltagssprachlichen Begriffen auf.² Diese sprachliche Ähnlichkeit führt dazu, dass Begriffe, die in den Sozialwissenschaften präzise definiert sind, außerhalb der Sozialwissenschaften nicht bedeutungsgleich verwendet werden. Zu den Begriffen, die in der Fachwelt und der Öffentlichkeit gleichermaßen, aber nicht deckungsgleich gebraucht werden, gehört der der Einstellungen.

In der psychologischen Einstellungsforschung werden Einstellungen als zusammenfassende Bewertungen eines Gegenstands oder eines Sachverhalts definiert (Bohner und Wänke, 2002: 5). Das heißt, Einstellungen bestehen aus einzelnen Elementen, die vom Individuum zu einer Bewertung zusammengeführt werden. Da diese Elemente zueinander in Widerspruch stehen können, sind Einstellungen und Einstellungselemente nicht notwendig konsistent und in sich widerspruchsfrei. Je nachdem, welche Elemente in einer spezifischen Situation kognitiv aktiviert werden, kann die bilanzierende Einstellung unterschiedlich ausfallen. Aus Studien über

²Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass alltagssprachliche Begriffe in der Wissenschaft aufgegriffen und präzisiert werden, aber auch darauf, dass sozialwissenschaftliche Begriffe Eingang in die Alltagssprache finden.

Einstellungen zur Gentechnik wissen wir, dass für die Einstellungsbildung Nutzen- und Risikoerwartungen, aber auch die ethische Bewertung und der regulative Umgang herangezogen werden (zusammenfassend Hampel und Zwick 2016).

Gerade bei Einstellungsobjekten wie dem Genome-Editing, das erst langsam öffentlich sichtbar wird, ist davon auszugehen, dass die Prozesse der Einstellungsbildung noch nicht abgeschlossen sind. Der Blick auf die Effekte der Ankündigung der Geburt zweier Kinder, die einer vorgeburtlichen Keimbahntherapie unterzogen wurden, ist unter dieser Perspektive besonders interessant.

Vor diesem Hintergrund ist ein expliziter Mangel an Studien zu konstatieren, die über direkte Erfassungen von Bewertungen des Einstellungsobjekts, das in einigen Studien immerhin systematisch variiert wird, hinausgehen. Dies gilt insbesondere für Deutschland. Besser ist die Studienlage bei kontroversen Themen wie dem Neuroenhancement.

20.2.2 Methodische Anforderungen und deren Umsetzung

Ähnlich problematisch wie der Einstellungsbegriff ist durch seine Unschärfe der Begriff der Umfrage. Umfragen variieren erheblich in der methodischen Qualität mit der sie durchgeführt werden, von bloßer anekdotischer Evidenz bis zu nach strengen methodischen Regeln durchgeführten Untersuchungen.

Für die Qualität sozialwissenschaftlicher Erhebungen sind zwei Kriterien besonders relevant, die Validität und die Repräsentativität. Die Validität bezieht sich auf die Messung: Wird das, was gemessen werden soll, auch tatsächlich gemessen? Für die Qualität einer sozialwissenschaftlichen Untersuchung ist die Qualität der Fragebogengestaltung von einer kaum zu überschätzenden Bedeutung. In Umfragen gestellte Fragen müssen so formuliert sein, dass sie begrifflich das fassen, was sie fassen sollen, intersubjektiv in möglichst gleicher Weise verstanden werden und das Antwortverhalten nicht in die eine oder andere Richtung beeinflussen.³

Besondere Anforderungen gelten auch für die Stichprobenziehung. Nicht alles, was als repräsentative Stichprobe dargestellt wird, entspricht tatsächlich den inferenzstatistischen Anforderungen an eine derartige Stichprobe. Damit Ergebnisse einer auf einer Stichprobe basierenden Umfrage verallgemeinert werden können, muss dieser Befragung eine Zufallsstichprobe zugrunde liegen. Derartige Untersuchungen sind aufwendig und teuer. In jüngerer Zeit werden, nicht zuletzt aus ökonomischen Gründen, verstärkt Onlinestichproben durchgeführt, bei denen behauptet wird, dass sie repräsentativ seien, deren methodische Qualität jedoch Fragen aufwirft. Hier gibt es erhebliche qualitative Unterschiede. Mitunter wird einfach über soziale Netzwerke ein Link zum Fragebogen weitergeleitet, sodass jeder Interessierte den Fragebogen ausfüllen kann. Selbst wenn die Fallzahl einer so gewonnenen Stichprobe eindrucksvoll aussehen mag, kann von einer Ver-

³Was auf den ersten Blick sehr leicht aussieht, gestaltet sich, wenn man sich der Fehlermöglichkeiten bewusst ist, als ein schwieriges Unterfangen. Dies gilt in besonderem Maße für sensible oder komplexe Themen wie die Genterapie.

allgemeinerungsfähigkeit derartiger Stichproben keine Rede sein. Weiter verbreitet sind Verfahren, bei denen Markt- und Meinungsforschungsinstitute, die mit Onlinebefragungen arbeiten, einen Pool an Personen vorhalten, die prinzipiell bereit sind, regelmäßig an Befragungen, insbesondere für Marktforschungszwecke, teilzunehmen. Aus diesem Pool werden dann nach vorgegebenen Quoten Personen gezogen, die ein verkleinertes Abbild der Grundgesamtheit abgeben sollen. Auch diese Form der Stichprobenziehung entspricht nur sehr bedingt den statistischen Kriterien einer repräsentativen Stichprobe.⁴ Viele der hier referierten Befragungen basieren auf einem solchen Stichprobendesign. Auf echten Zufallsstichproben basieren nur wenige der hier referierten Studien.

Da in China die Voraussetzungen für Befragungen noch einmal schwieriger sind, wurden hier Proxy-Analysen von Debatten in sozialen Netzwerken aufgeführt, indem Studien behandelt werden, die soziale Netzwerke untersucht haben. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass die Teilnehmer-schaft des chinesischen Social-Media-Kanals Weibo, mehr noch als die von Twitter selbst, hochgradig selektiv ist.⁵

20.3 Einstellungen zur Gentherapie

20.3.1 Ein Blick zurück – Gentherapie in der Vergangenheit

Forschungen zu den Einstellungen zur Gentechnik reichen zurück bis in die frühen 1990er-Jahre.⁶ Anfänglich stand die wissenschaftliche Forschung im Zentrum des Interesses: In den ersten Eurobarometerstudien zur Gentechnik in den Jahren 1991 und 1993 wurde noch sehr allgemein danach gefragt, ob wissenschaftliche Versuche, die für eine Vielzahl von Anwendungszielen gentechnische Methoden anwenden, befürwortet oder abgelehnt werden. Genannt werden etwa das Erkennen und Heilen von Krankheiten und von Eigenschaften, die wir von unseren Eltern geerbt haben können. Erst ab Mitte der 1990er-Jahre wurden konkrete Anwendungen der Gentechnik zum Gegenstand der Forschung, darunter die Gentherapie. So wurde die Gentherapie im Sinn einer Krebstherapie in das Fragebogenprogramm des Deutschen Biotech-Surveys von 1996 aufgenommen (Hampel und Renn 1997). Die Eurobarometer-Studien zur Gentechnik haben Gentherapie als spezifisches Einstellungsobjekt erst im Jahr 2005 in das Fragebogenprogramm aufgenommen und 2010 wiederholt (Gaskell et al. 2010; Hampel 2008, 2011).⁷

⁴Zur methodischen Qualität von Onlinebefragungen vgl. Bandilla (2015).

⁵Ji et al. (2022: 3) weisen darauf hin, dass Weibo-Nutzer deutlich jünger sind als die durchschnittliche chinesische Bevölkerung. 75 % der Weibo-Nutzer sind zwischen 18 und 30.

⁶Ein Überblick über die englischsprachige Literatur vor 2020 findet sich bei Delhove et al. (2020).

⁷Nach 2010 wurden keine weiteren Eurobarometerstudien zur Gentechnik durchgeführt, sodass von dieser Seite eine erhebliche Datenlücke vorliegt, die andere Datenquellen nur unzureichend kompensieren können. Dies ist umso bedauerlicher, als mit den Eurobarometeruntersuchungen auf der Basis qualitativ hochwertiger Stichproben vergleichbare Informationen über eine Vielzahl an Ländern (derzeit rund 30) zur Verfügung gestellt werden kann.

Bereits in frühen Untersuchungen, etwa den Eurobarometerbefragungen von 1991 und 1993, ist eine Diskrepanz der Bewertung gentechnischer Anwendungsfelder zu beobachten. Während die Gentechnik in der Landwirtschaft insbesondere in Europa auf verbreitete Skepsis stößt, findet sie in der Medizin eine breite Zustimmung, dies gilt namentlich für die Gentherapie. Voraussetzung für die Akzeptanz ist, so ein wesentliches Ergebnis dieser Studien, ein als angemessen empfundener Regulierungsrahmen, 2010, nach der Finanzkrise von 2008, noch stärker als 2005 (Hampel 2011).

Nach dem Ende der Eurobarometer-Befragungen zur Gentechnik, die methodisch sauber erhobene international vergleichbare Daten lieferten, im Jahr 2010 blieb man auf Einzelstudien angewiesen, die sich mit unterschiedlichen Operationalisierungen und verschiedenen methodischen Designs der Frage der Wahrnehmung der Gentherapie zuwandten. Dies ist umso bedauerlicher, als mit der Genschere (CRISPR/Cas9) ein neues Instrument zur Verfügung stand, das zunächst in der wissenschaftlichen Community selbst für erhebliches Aufsehen und intensive Diskussionen sorgte.

20.3.2 Studien zum Genome-Editing

Das auf Genschere basierende Genome-Editing (siehe Fehse et al., Kap. 7) ist, anders als die Gentechnik, in der Öffentlichkeit ein noch weitgehend unbekanntes Phänomen. Dies ermittelten Busch et al. (2022) in einer international vergleichenden, aber nicht auf repräsentativen Stichproben basierenden Studie in Kanada, den USA, Österreich, Deutschland und Italien.

In einer aktuellen Studie von 2022 ermittelte das Pew Research Center (2022: 76), dass viele US-Amerikaner über dieses Thema gelesen oder davon gehört hätten, aber 44 % gaben an, noch nie davon gehört zu haben.

Auch nach Einführung des Genome-Editing hat sich an der generellen Unterstützung der Gentherapie als Therapiemethode nichts geändert, wie eine Reihe insbesondere amerikanischer Studien ergeben hat.⁸ Scheufele et al. (2017) und das Pew Research Center (2018) finden eine verbreitete Zustimmung zu Genome-Editing in den USA. Bei therapeutischen Anwendungen liegt die Zustimmung bei über 60 %, wenn eine Krankheit unmittelbar nach der Geburt einzutreten droht, sogar bei 72 % (Pew Research Center 2018).⁹

⁸Ein Überblick über die englischsprachige Literatur vor 2020 findet sich bei Delhove et al. (2020).

⁹Gefragt wurde, ob Veränderungen der Gene eines Babys angemessen sind, eine ernsthafte Krankheit oder einen ernsthaften Zustand zu behandeln, den das Baby bei der Geburt hätte. Die Frageformulierung ist insofern missverständlich als aus der Frage nicht eindeutig hervorgeht, dass es hier aus logischen Gründen um die Behandlung eines Embryos und nicht die Behandlung eines Babys gehen muss. Shanks (2020) kritisiert ähnliche Frageformulierungen des Pew Research Centers in einem Survey im Jahr 2020 als irreführend.

In Deutschland hat sich das TechnikRadar in seiner 2020er-Folge auch der Erforschung der Einstellungen zur Biotechnologie und neben Fragen zur Grünen Gentechnik und der Schaffung von Organen für Organtransplantationen auch der Gentherapie zugewandt (Acatech und Körber-Stiftung 2020; Hampel et al. 2021). Dabei wurden mehrere Anwendungskontexte erfasst: von der somatischen Gentherapie am Erwachsenen über die somatische Gentherapie am Embryo bis hin zur Keimbahntherapie, auch wenn diese in Deutschland verboten ist.

Die Daten des TechnikRadar zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen der Akzeptanz der somatischen Gentherapie beim Erwachsenen, die von 70 % der Deutschen befürwortet wird, und der somatischen Gentherapie am Embryo, die nur von einem Drittel der Befragten (36 %) unterstützt wird. Während die somatische Gentherapie am Erwachsenen nur selten Ablehnung hervorruft (9,3 %), sind es bei der somatischen Gentherapie am Embryo bereits 34,5 %. Auch der Anteil entschieden ablehnender Urteile ist bei der somatischen Gentherapie am Embryo deutlich größer (25,4 %) als bei der somatischen Gentherapie am Erwachsenen (6,7 %). Deutlich ablehnender als die somatische Gentherapie am Erwachsenen wie am Embryo wird die Keimbahntherapie beurteilt. Weniger als 20 % (18,8 %) stimmen dieser Therapie eher oder voll und ganz zu, während fast 50 % (49,3 %) diese Therapieform ablehnen. Der Anteil entschieden Ablehnender ist mit 35,7 % noch einmal deutlich höher als bei der somatischen Gentherapie am Embryo. Überraschend hoch ist mit 31,8 % der Anteil der Unentschiedenen.

Die Ambivalenz der Einstellungen zur embryonalen Gentherapie zeigt sich auch in internationalen Studien. In einer US-amerikanischen Untersuchung von 2022 hat sich das Pew Research Center u. a. mit den Einstellungen zur Gentherapie von Babys beschäftigt. Gefragt, ob die Anwendung von Genome-Editing, womit das Risiko für ein Baby reduziert würde, im Verlauf seines Lebens ernsthafte Krankheiten oder gesundheitliche Beeinträchtigungen zu entwickeln, gut oder schlecht für die Gesellschaft wäre, waren die Befragten eher ambivalent. Die größte Gruppe, mit 39 %, waren diejenigen, die zu dieser Frage keine Meinung bilden konnten. Jeweils 30 % hielten es für eine gute bzw. schlechte Idee für die Gesellschaft. Neben der direkten Erfassung der persönlichen Bewertung haben sich die Autoren des Pew Research Centers mit den erwarteten gesellschaftlichen Anwendungen des Genome-Editing beschäftigt.¹⁰ Gegenüber der direkten Frage nach der Bewertung ist hier das Spektrum leicht verschoben. Immerhin 39 % erwarten, dass die Lebensqualität der Menschen dadurch verbessert wird, 40 % erwarten, dass keine Auswirkungen zu erwarten sind und 19 % erwarten Verschlechterungen der Lebenssituation der Menschen. Bei der Ambivalenz der Einschätzungen überrascht es nicht, dass 80 % strengere gesetzliche Standards einfordern. Deutlich weniger problematisch wäre es, wenn Genome-Editing am einwilligungsfähigen Erwachsenen durchgeführt würde. Unter dieser Voraussetzung halten es immerhin 53 % für akzeptabler, während dies für 34 % keinen Unterschied macht (Pew Research Center 2022: 79).

¹⁰ „Wenn sich die Anwendung von Genome-Editing, die das Risiko eines Babys, im Laufe seines Lebens schwerwiegende Krankheiten oder Gesundheitsstörungen zu entwickeln, stark reduziert, weit verbreitet, wäre die Lebensqualität der Menschen a) besser als heute, b) ungefähr gleich wie heute oder c) schlechter.“

Auch die Erwartungen an das Genome-Editing sind ambivalent. Jeweils zwei Drittel sind der Auffassung, dass die Gesellschaft als Ganze davon profitieren würde, aber auch Individuen, da sie länger leben und eine bessere Lebensqualität hätten. Neben positiven sind auch negative Erwartungen verbreitet. Immerhin 84 % befürchten, dass Genome-Editing auch in moralisch inakzeptabler Weise genutzt wird (Pew Research Center 2022: 100). Das Problem des Missbrauchs verweist auf den wahrgenommenen Regulierungsbedarf. Schon die Eurobarometerbefragungen von 2005 und 2010 (siehe Hampel 2008, 2011) ergaben eine starke Abhängigkeit der Zustimmung von einer Regulierung, die über das Übliche hinausgeht. Auch die Pew Research Center Studie von 2022 geht in die gleiche Richtung. 80 % der Befragten erwarten Tests mit Standards, die höher sind als für gewöhnliche medizinische Behandlungen. Bei der Frage, wer die Standards beim Umgang mit Genome-Editing setzen sollte, werden an erster Stelle Medizinwissenschaftler genannt (67 % weisen ihnen eine bedeutende Rolle zu). Betroffenen wird etwas seltener eine bedeutende Rolle zugewiesen (55 %). Unternehmen, die die Technik entwickelt haben, sollen für immerhin noch 44 % eine bedeutende Rolle einnehmen und die US-amerikanische Bundesregierung für 41 %. Vergleichbare Daten zu Deutschland liegen nicht vor. Es ist davon auszugehen, dass die Ergebnisse teilweise anders aussehen würden.

Neben Studien in den Vereinigten Staaten führt das US-amerikanische Meinungsforschungsinstitut Pew Research Center regelmäßig auch internationale Vergleichsstudien zu verschiedenen Themen durch. In einer internationalen Vergleichsstudie im Jahr 2020, u. a. in den USA, in Kanada, Brasilien, den wichtigsten EU-Ländern, Großbritannien und einer Reihe ökonomisch bedeutsamer asiatischer Staaten,¹¹ wurden die Grenzen der Zustimmung zur Genterapie untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Abwägungsprozesse zwischen den angestrebten Zielen und den dafür in Kauf zu nehmenden Nachteilen vorgenommen werden. Anders als die bislang dargestellten Studien ermittelt diese Pew-Studie hohe Zustimmungswerte zur Genterapie bei Embryonen. Eine pränatale Genterapie, um ernsthafte Krankheiten zu behandeln, die das Baby andernfalls bei der Geburt haben würde, findet eine breite Zustimmung, nicht nur in Deutschland (70 %) und den USA (66 %), sondern insbesondere in Spanien (88 %), Italien (80 %), Frankreich und Taiwan (jeweils 78 %). Deutlich niedriger ist die Zustimmung in Malaysia (63 %), Polen und Russland (jeweils 62 %), am niedrigsten in Tschechien (58 %) und Japan (57 %). Ein genterapeutischer Eingriff, der lediglich das Ziel hat, das Risiko einer ernsthafte Erkrankung zu reduzieren, findet in allen untersuchten Ländern weniger Zuspruch. In Deutschland ist hier der Rückgang mit über 20 % auf 49 % besonders deutlich.¹²

¹¹ Australien, Indien, Japan, Malaysia, Russland, Singapur, Südkorea und Taiwan.

¹² Hier muss allerdings erwähnt werden, dass der genaue Kontext der Frage logisch erschlossen werden muss. Es wird nicht explizit darauf hingewiesen, dass eine Therapie am Embryo gemeint ist. Da nach Krankheiten gefragt wird, die das Baby nach der Geburt haben wird, ist nur diese Interpretation schlüssig. Shanks (2020) kritisiert aus diesem Grund die gewählte Item-Formulierung als nicht präzise genug. Hier wird insbesondere auch deutlich, wie komplex solche Fragestellungen sind.

Aus Japan und China gibt es, allerdings nicht repräsentative, Studien, die vergleichend Laien und medizinische Experten untersucht haben. Wang et al. (2017) haben eine umfangreiche Studie zur Erfassung der Einstellungen zur Gentherapie bei Klinikern und Laien in China durchgeführt. Die Stichprobe ist mit 13.563 Teilnehmern zwar sehr eindrucksvoll, die Methode der Stichprobenziehung ist allerdings weit entfernt von sozialwissenschaftlichen Standards.¹³ Sowohl bei Klinikern als auch bei Laien ist die Gentherapie weniger bekannt (63,1 % und 29,9 %) als genetisch veränderte Lebensmittel (90,2 % und 83,4 %). Insbesondere bei den Laien ist der Unterschied erheblich. Verschiedene Anwendungskontexte der Gentherapie kommen sowohl bei Klinikern als auch bei Laien auf Zustimmungswerte von über 80 % (Wang et al. 2017: 3).

In Japan haben Kobayashi et al. (2022) Onlinesurveys durchgeführt, mit denen sie drei Zielpopulationen adressieren wollten: die allgemeine Öffentlichkeit („general public“), Patienten und Patientenfamilien sowie Mitarbeiter des Gesundheitssystems. Die Untersuchungen bezogen sich dabei auf vier verschiedene mögliche Gründe für die Durchführung von Genome-Editing (Kobayashi et al. 2022: 543: 1) ein Paar hofft, durch Genome-Editing ein Kind zu bekommen, das eine unheilbare Krankheit, die im Erwachsenenalter ausbricht und schließlich zur Bettlägerigkeit führt, nicht bekommen wird. 2) Ein Paar hofft, durch Genome-Editing ein Kind zu bekommen, das eine unheilbare Krankheit, die schon bei der Geburt sehr ernst ist und zum Tod führt, bevor das Kind das Erwachsenenalter erreicht, nicht bekommen wird. 3) Durch genetische Besonderheiten ist ein Paar nicht in der Lage, ein Kind zu bekommen. Sie hoffen sehr stark, dass sie durch Genome-Editing in der Lage sein werden, ein Kind zu bekommen; und 4) ein Paar hofft, durch Genome-Editing ein Kind zu bekommen, das eine bestimmte gewünschte Eigenschaft hat (z. B. sportliche Fähigkeiten, ideale Körperform etc.). Die Fälle 1 bis 3 werden ähnlich bewertet, die Zustimmung ist jeweils bei Patienten und Angehörigen am größten und bei Professionellen am niedrigsten. Bei der Anwendung 2), derjenigen mit der größten Zustimmung, äußern sich beispielsweise 60,2 % der Angehörigen und Patienten, 47,2 % der allgemeinen Öffentlichkeit, aber nur 39,1 % der Mitarbeiter des Gesundheitswesens positiv. Auffällig ist, dass bei allen drei Fällen die Ablehnung bei den Professionellen deutlich größer ist als bei den anderen Gruppen. Anwendung 2) lehnen beispielsweise 38,8 % der Professionellen, aber nur 21,5 % in der allgemeinen Öffentlichkeit und nur 14,7 % der Patienten und Angehörigen ab.

Anders sieht es beim Genetic Enhancement aus (4). Dieses wird von allen drei Gruppen deutlich abgelehnt. Über 90 % der Professionellen (94,8 %) und Angehörigen und Patienten (92,4 %) lehnen diese Anwendung des Genome-Editing ab; etwas geringer ist die Ablehnung in der allgemeinen Öffentlichkeit (70 %). Vor allem bei Professionellen und Angehörigen und Patienten gibt es zum genetischen Enhancement nur eine sehr geringe Zustimmung (ca. 2 %).

¹³In der Folge sind Bessergebildete und Jüngere in der Stichprobe weitaus überrepräsentiert. 84,4 % der Befragten haben zumindest einen Bachelorabschluss und knapp 50 % sind jünger als 25.

20.3.3 Studien zur Keimbahntherapie

Während die Gentherapie am Erwachsenen weitgehend unumstritten ist, beobachten wir eine deutlich geringere Zustimmung bei der somatischen Gentherapie am Embryo. Genau diese Anwendung ist aber aus therapeutischer Perspektive besonders interessant. Je weniger ausdifferenziert die Zellen sind, umso größer ist der therapeutische Effekt, umso größer ist aber auch das Risiko, dass die genetische Veränderung auch die Keimbahn betrifft. Es handelt sich hierbei um die kritische Abgrenzung zwischen somatischer Gentherapie und Keimbahntherapie, die auch das Erbgut verändert. Die Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht* hat diese Problematik ausführlich diskutiert (Reich et al. 2015).

In Deutschland wurden Einstellungen zur Keimbahntherapie im Rahmen des TechnikRadar 2020 untersucht (Acatech und Körper-Stiftung 2020; Hampel et al. 2021). Um Framingeffekte untersuchen zu können, das heißt, um zu überprüfen, welche Auswirkungen unterschiedliche Perspektiven auf das Antwortverhalten haben, wurde bei der Befragung eine Split-Half-Methode eingesetzt:¹⁴ Dabei wurden die Einstellungen zur Keimbahntherapie auf unterschiedliche Weise formuliert und beide Varianten bei der Befragung zufällig eingesetzt. Bei einer der beiden verwendeten Frageformulierungen wurde explizit darauf hingewiesen, dass die therapeutische genetische Veränderung an künftige Generationen weitergegeben wird. Anders als bei der somatischen Gentherapie dominiert hier die Ablehnung (49,3 % gegenüber 18,8 % Zustimmung). Ein starkes Drittel (35,7 %) lehnt diese Anwendung sogar entschieden ab. Bei der anderen Variante wurde der medizinische Langzeiteffekt dahingehend betont, dass erbliche Krankheiten nicht mehr an Nachkommen weitergegeben werden. Mit einer solchen konsequentialistischen Frageformulierung erhalten wir deutlich höhere Zustimmungswerte: Fast die Hälfte (47,4 %) stimmt, so gefragt, der Keimbahntherapie zu und nur 25,9 % äußern sich ablehnend.

Wesentlich höhere Zustimmungswerte gibt es in China. In der Studie von Wang et al. (2017: 30), deren methodische Probleme oben angesprochen wurde, wird die Keimbahntherapie jeweils von rund 56 % der Befragten unterstützt, jeweils ein Viertel lehnt sie ab (Wang et al. 2017: 30).

Die Bekanntgabe der Geburt genetisch veränderter Kinder durch den chinesischen Wissenschaftler He Jiankui löste in China nicht nur staatliche Aktivitäten aus, die in einer Suspendierung und einer Verurteilung zu einer dreijährigen Haftstrafe endeten, sondern auch intensive Diskussionen in den sozialen Medien. Ji et al. (2022) haben Diskussionen auf den Social-Media-Plattformen Twitter (USA) und Weibo (China) vergleichend analysiert.¹⁵ Zeitlich beschränkt sich ihre Unter-

¹⁴ Split-Half bedeutet, dass zufallsgesteuert die Hälfte der Befragten eine andere Fragebogenversion bekommt als die andere Hälfte. Damit ist es beispielsweise möglich, in einem quasi-experimentellen Design die Effekte unterschiedlicher Frageformulierungen zu eruieren.

¹⁵ Die Vergleichbarkeit von Twitter und Weibo wird u. a. durch das unterschiedliche Durchschnittsalter der Nutzer beider Plattformen eingeschränkt. Während das Durchschnittsalter der Twiternut-

suchung auf jeweils die zwei Monate vor und nach dem Ereignis. Auffällig ist, dass diese Diskussion sowohl in den USA als auch in China diese Diskussion zwischen dem 26. und dem 29. November 2018 am intensivsten war, in unmittelbarem zeitlichen Zusammenhang mit der Pressekonferenz von He. An anderen Tagen finden sich insbesondere in China nur selten Beiträge über diese Fragen in den sozialen Medien (vgl. auch Zhang et al. 2021). Entsprechend fokussiert war die Diskussion. Fast die Hälfte (44,3 %) bezog sich auf die Kontroverse um die genetisch veränderten Embryonen. An Nummer 2 waren mit 33,9 % wissenschaftliche Aspekte des Genome-Editing, gefolgt von den Maßnahmen der chinesischen Behörden gegen He Jiankui (21,8 %). In den USA war die Bandbreite der Themen größer. Hier war die Ethik der Anwendung von CRISPR/Cas9 am Menschen, einschließlich der ersten genetisch veränderten menschlichen Embryonen das wichtigste Thema. 31,8 % aller Äußerungen entfielen auf dieses Thema. Auf Platz 2 folgte mit 15,4 % CRISPR/Cas9 in der Forschung.

Zhang et al. (2021) ermittelten mit einer Analyse der Kommunikation in Weibo ebenfalls deutliche Verschiebungen. Dominierte vor dem Skandal der Frame „wissenschaftliche Entwicklung“ („scientific development“) mit 73,8 % der Nennungen, bezog sich danach nur jede fünfte Nennung (20,3 %) auf diesen Frame. Stattdessen haben Frames an Bedeutung gewonnen, die sich mit dem Sozialsystem Wissenschaft beschäftigen. An Bedeutung hat insbesondere der Frame „Wissenschaftsskandale“ gewonnen (von 2,3 % auf 48,8 %), aber auch Fragen der Gesetze und Regulierungen (von 2,8 % auf 15,5 %) und Wissenschaftler (von 1,9 % auf 14,9 %) haben erheblich an Bedeutung gewonnen.

20.3.4 Human Enhancement

Die Akzeptanz therapeutischer Anwendungen unterscheidet sich deutlich von der Akzeptanz des genetischen Enhancement. Eine Studie von Gaskell et al. (2017), die auf Onlinestichproben mit insgesamt 11.716 Befragten in den USA sowie einer Reihe von neun europäischen Ländern¹⁶ basiert, hat zwei verschiedene Anwendungen untersucht, die somatische Gentherapie und das genetische Enhancement, und jeweils zwei Anwendungskontexte unterschieden, die Anwendung an Erwachsenen und an Embryonen. Dazu wurden die Befragten gefragt, ob sie dieselbe Entscheidung treffen würden wie die in der Vignette beschriebene Person, die sich für einen Eingriff (Gentherapie, genetisches Enhancement) entscheidet, wenn sie in deren Lage wären, und ob sie die jeweilige Entscheidung für moralisch akzeptabel halten.

Die Befragten unterscheiden eindeutig zwischen Therapie und Enhancement, wobei die durchschnittliche Zustimmung zur Therapie an Erwachsenen größer ist als die Zustimmung zur embryonalen Gentherapie, bei der die Zustimmung auch wesentlich stärker variiert als bei der adulten Gentherapie (siehe Abb. 20.1).

zer bei 40 Jahren liegt, sind Weibonutzer deutlich jünger (Ji et al. 2022: 3).

¹⁶Österreich, Dänemark, Deutschland, Island, Italien, Niederlande, Portugal, Spanien und Großbritannien.

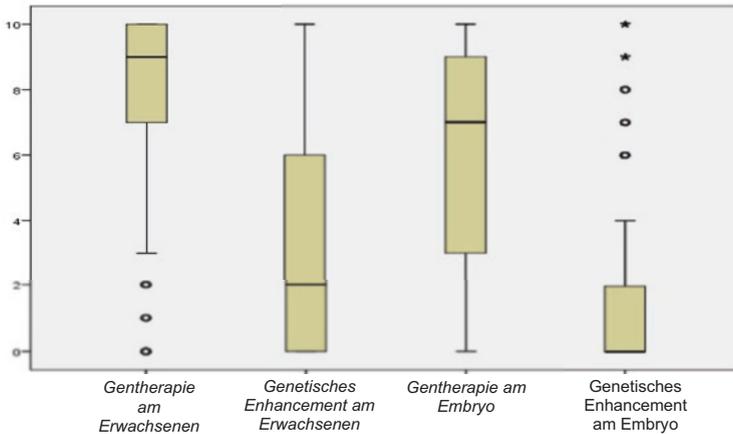


Abb. 20.1 Einstellungen zu Gentherapie und genetischem Enhancement bei Erwachsenen und Embryonen

Die Grafik gibt sowohl den Median (Querstrich) als auch die beiden mittleren Quartile an. Die verwendete 11-Punkteskala geht von ,0' (absolute Ablehnung) bis ,10' (absolute Zustimmung). Gefragt wurde zu einer vorgegebenen Situation, ob man die gleiche Entscheidung treffen würde wie die Person in der fraglichen Vignette. (Quelle: Gaskell et al. 2017: 1022.)

Genetische Eingriffe zur Leistungssteigerung werden dagegen weitgehend abgelehnt. Finden wir beim genetischen Enhancement noch eine Bandbreite von Bewertungen, ist die Ablehnung des embryonalen Enhancements absolut dominant. Die Ablehnung des embryonalen Enhancements wird besonders deutlich daran, dass der Medianwert mit dem Skalenwert der stärksten Ablehnung (Skalenwert ,0') identisch ist.

Wenn wir die in diese Studie einbezogenen Länder vergleichen, finden wir ein vergleichsweise homogenes Zustimmungsniveau bei der therapeutischen Behandlung von Erwachsenen (Gaskell et al. 2017: 1022). In allen untersuchten europäischen Ländern wie auch in den USA sind die Zustimmungswerte hoch. Dagegen wird das pränatale Enhancement ebenso einheitlich in allen Ländern deutlich abgelehnt. Geringe Unterschiede zwischen den untersuchten Ländern finden wir beim pränatalen Enhancement. Therapeutische Eingriffe am Embryo werden in den mediterranen Ländern Portugal, Spanien und Italien positiver wahrgenommen als in Großbritannien, Dänemark, Deutschland und Österreich. Auffällig ist hier, dass genetische Eingriffe zum Enhancement von Erwachsenen vor allem in Großbritannien und den USA Verständnis finden, auch wenn in diesen Ländern insgesamt die Ablehnung überwiegt. In Dänemark, Deutschland und Österreich wird auch das Enhancement von Erwachsenen voll und ganz abgelehnt.

Scheufele et al. (2017) und das Pew Research Center (2018) kommen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass genetisches Enhancement nur auf geringe Zustimmung stößt, wobei der Pew-Studie zufolge immerhin 19 % es unterstützen, Babys durch Genome-Editing intelligenter zu machen.

Zu weitaus höheren Werten kommt die bereits erwähnte internationale Pew-Studie aus dem Jahr 2020. Auch diese Studie erbrachte das Ergebnis, dass in den meisten untersuchten Ländern weitgehend abgelehnt wird, Genome-Editing zu nutzen, um ein Baby intelligenter zu machen. Ausnahmen gibt es allerdings in einigen asiatischen Ländern. In Indien halten dies zwei von drei (64 %) für angemessen, in Malaysia immerhin noch 44 % und in Taiwan und Singapur rund 30 %. Japan andererseits unterscheidet sich in dieser Frage kaum von Deutschland. Zu Ablehnungsraten von 70 % kommen in Japan auch Kobayashi et al. (2022).

In einer, in ihrem Stichprobendesign allerdings problematischen, Onlinebefragung haben Wang et al. (2017) neben Einstellungen zur Gentherapie auch Einstellungen zu genetischem Enhancement untersucht. Dabei stießen sie in ihrer Untersuchung auf eine im internationalen Vergleich erstaunlich hohe Zustimmung zum genetischen Enhancement von Kindern, bei Laien (39,8 %) noch stärker als bei Klinikern (32,5 %). Eine mögliche Ursache für die hohen Zustimmungswerte zu genetischem Enhancement sehen die Autoren im soziokulturellen Druck, sich in einer immer kompetitiveren Welt zu behaupten.

20.3.5 Der gesellschaftliche Kontext von Zustimmung und Ablehnung

Unterstützung und Ablehnung der Gentherapie sind in der kognitiven Struktur differenziert begründet. Halstead et al. (2023) unterscheiden als Resultat einer latenten Klassenanalyse, einem statistischen Verfahren, bei dem auf der Grundlage kategorialer Variablen Fälle nach Ähnlichkeit gruppiert werden, zehn unterschiedliche Begründungs- bzw. Ablehnungsmuster, drei positive Gruppen, fünf kritische und zwei neutral-ambivalente. Ein Teil der Befürworter spricht sich nicht nur für den Einsatz an Erwachsenen, sondern auch für den Einsatz an Embryonen aus. Ein anderer Teil sieht auf der individuellen Ebene Vorteile, bezweifelt aber positive gesellschaftliche Auswirkungen der Gentherapie. Noch differenzierter setzen sich die Gegner zusammen, bei denen sich vorsichtige Pragmatiker, vorsichtige Moralisten, moderate Gegner, Gegner aus Gründen der sozialen Gerechtigkeit sowie unterschiedene Gegner finden lassen. Auch ein unsicheres Urteil kann auf Urteilsunsicherheit beruhen, aber auch auf Ambivalenz.

In seiner internationalen Vergleichsstudie ermittelte das Pew Research Center (2020) in einigen Ländern deutliche Unterschiede zwischen Religiösen und Nichtreligiösen, insbesondere in den USA (26 %), den Niederlanden (21 %), Kanada (19 %), Großbritannien (18 %), Schweden (15 %), in Asian Malaysia (18 %) und Australien (16 %). In anderen Ländern, zu denen auch Deutschland zählt, gab es diese Unterschiede nicht. Dabei ist auffällig, dass sich in den Ländern mit geringen Unterschieden zwischen Religiösen und Nichtreligiösen die durchschnittlichen

Einstellungen nicht substanziell von den Einstellungen unterscheiden, die religiöse Menschen in Ländern mit erheblichen Unterschieden zwischen religiösen und nichtreligiösen Menschen haben. Möglicherweise können wir hier eine Säkularisierung religiöser Moralvorstellungen beobachten. Auch das TechnikRadar ermittelte einen nur sehr schwachen Zusammenhang zwischen der Religiosität und der Bewertung der Gentherapie (Acatech und Körper-Stiftung 2020; Hampel et al. 2021).

In ihrer Studie von 2022 in den USA ermittelt das Pew Research Center einen erheblichen Einfluss der Religiosität auf die Bewertung des Genome-Editing. Dass man der Natur ins Handwerk pfuscht¹⁷ und eine rote Linie überschreitet, meinen 72 % der sehr Religiösen, aber nur 36 % der wenig Religiösen. Das gegenteilige Narrativ, dass es zur menschlichen Natur gehört, dass wir uns verbessern und es hier nicht anders ist, teilen nur 26 % der sehr Religiösen, aber zwei Drittel (64 %) der wenig Religiösen.

Gibt es bei der Bewertung der somatischen Gentherapie, ob am Erwachsenen oder am Embryo, nur geringe Unterschiede zwischen Männern und Frauen, zeigt das TechnikRadar deutliche Unterschiede bei der Bewertung der Keimbahntherapie, und hier insbesondere bei der Verbreitung der Ablehnung der Keimbahntherapie. Bei Frauen ist der Anteil der Ablehnenden 10 %-Punkte höher als bei Männern. Die Unterschiede zwischen den Geschlechtern verstärken sich noch, wenn wir die Bildung berücksichtigen. Die stärkste Ablehnung gibt es bei wenig gebildeten Frauen, die geringste Ablehnung bei gut gebildeten Männern (mindestens Fachabitur). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen liegt bei über 30 %. Bei den gut gebildeten Männern ist auch die Zustimmung zur Keimbahntherapie am größten (28,8 % eher oder voll und ganz zustimmend).

20.4 Fazit

Nach wie vor findet die therapeutische Anwendung gentechnischer Methoden eine breite gesellschaftliche Unterstützung. Das gilt in Deutschland, den USA und vielen anderen Ländern, in denen Einstellungen zur Gentherapie empirisch untersucht wurden. Auch wenn die Datenlage unbefriedigend ist, mit denen individuelle Urteilsbildungsprozesse nachvollzogen werden können. Die Zustimmung unterscheidet sich je nach Kontext der Therapie. Die Zustimmung zu therapeutischen Eingriffen bei Erwachsenen ist größer als die Zustimmung zu Gentherapien bei Embryonen. Erwachsene können selbst entscheiden, über Embryonen wird entschieden. Bei Zustimmung und Ablehnung werden immer auch Grenzziehungen vorgenommen. Zugestimmt wird therapeutischen Eingriffen. Wird aus der Therapie, also der Bekämpfung von Krankheiten, ein Enhancement, also eine Verstärkung erwünschter Eigenschaften, finden wir eine weit verbreitete Ablehnung, mehr noch, wenn dies am Embryo durchgeführt wird.

¹⁷ „Meddling with Nature“.

Mehrheitlich abgelehnt wird derzeit auch die Keimbahntherapie, also therapeutische Veränderungen des Genoms, die auch an die Nachkommen weitergegeben werden. Die Analysen des TechnikRadar lassen es allerdings nicht unwahrscheinlich erscheinen, dass ein gesellschaftlicher Druck zur Erlaubnis der Keimbahntherapie aufgebaut werden kann, wenn erfolgversprechende Therapieangebote vorliegen und Interessengruppen kommunikativ den therapeutischen Frame durchsetzen.

Dass Kommunikation nicht automatisch zur Zustimmung führt, ist ein wesentliches Ergebnis eines niederländischen Projekts, das einen Bürgerdialog zur Keimbahntherapie sozialwissenschaftlich begleitete (Houtman et al. 2022). Kommunikation hat dennoch einen positiven Effekt. Teilnehmer des Dialogs haben nicht ihre Haltung zur Keimbahntherapie geändert, das Projekt führte eher dazu, dass den Teilnehmern die eigene Position bewusster wurde und sie in die Lage versetzt wurden, die eigene Position gegenüber den Positionen anderer in Bezug zu setzen.

Literatur

- Acatech Körper-Stiftung (2020) TechnikRadar 2020. Was die Deutschen über Technik denken. Schwerpunkt Bioökonomie. München/Hamburg
- Albrecht S et al (2021) Genome Editing am Menschen. Endbericht zum Monitoring. Arbeitsbericht Nr. 191. Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag, Berlin
- Bandilla W (2015) Online-Befragungen. GESIS Leibniz-Institut für Sozialwissenschaften (GESIS Survey Guidelines), Mannheim
- Beck U (1986) Risikogesellschaft. Auf dem Weg in eine andere Moderne. Suhrkamp, Frankfurt am Main
- Bohner G, Wänke M (2002) Attitudes and attitude change. Psychology Press, East Sussex
- Busch G et al (2022) Citizen views on genome editing: effects of species and purpose. *Agric Hum Values* 39:151–164
- Delhove J et al (2020) Public acceptability of gene therapy and gene editing for human use: a systematic review. *Hum Gene Ther* 31(1,2):20–46
- Fehse B, Domasch S (Hrsg) (2011) Gentherapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Themenband der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht. Forum W, Dornburg
- Gaskell G et al (2010) Europeans and biotechnology in 2010. Winds of change? European Commission Directorate-General for Research, Brüssel
- Gaskell G et al (2017) Public views on gene editing and its uses. *Nat Biotechnol* 35(11):1021–1023
- Gießelmann K (2018) Keimbahntherapie. Die ersten CRISPR-Babies. *Deutsches Ärzteblatt* 115(49):A 2278–A 2279
- Halstead IN et al (2023) Heterogeneous attitudinal profiles towards gene editing: evidence from latent class analysis. *Public Underst Sci* 32(2):159–174
- Hampel J (2008) Wahrnehmung und Bewertung der Gentherapie in der bundesdeutschen Bevölkerung. In: Hucho F et al (Hrsg) Gentherapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Forum W, Dornburg, S 141–165
- Hampel J (2011) Wahrnehmung und Bewertung der Gentherapie in der deutschen Bevölkerung. In: Fehse B, Domasch S (Hrsg) Gentherapie in Deutschland. Eine Interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Themenband der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht. Forum W, Dornburg, S 227–256
- Hampel J, Renn O (Hrsg) (1997) Gentechnik in der Öffentlichkeit. Wahrnehmung und Bewertung einer umstrittenen Technologie. Campus, Frankfurt, New York
- Hampel J, Zwick M (2016) Wahrnehmung, Bewertung und die Akzeptabilität von Technik in Deutschland. *Technikfolgenabschätzung in Theorie und Praxis (TATuP)* 25(1):25–38

- Hampel J et al (2021) Landwirtschaft und Medizin – Antipoden bei der Wahrnehmung. In: Fehse B et al (Hrsg) Fünfter Gentechnologiebericht. Sachstand und Perspektiven für Forschung und Anwendung. Nomos, Baden-Baden, S 504–522
- Houtman D et al (2022) Changes in opinions about human germline gene editing as a result of the Dutch DNA dialogue project. *Eur J Hum Genet* 31:409–416
- Hucho F et al (Hrsg) (2008) Genterapie in Deutschland. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Themenband des Gentechnologieberichts. Forum W, Dornburg
- Ji J et al (2022) Comparison of public discussions of gene editing on social media between the United States and China. *PLOS One*
- Kobayashi S et al (2022) Public attitudes in the clinical application of genome editing on human embryos in Japan: a cross-sectional survey across multiple stakeholders. *J Hum Genet* 67(9):541–546
- Normile D (2018) For China, a CRISPR first goes too far. Scientists and ethicists call for strengthened oversight in wake of He Jankui’s announcement. *Science* 362(6419):1091
- Normile D (2019) Chinese scientist who produced genetically altered babies sentenced to 3 years in jail. *Science*
- Pew Research Center (2018) Public views of gene editing for babies depend on how it would be used. Unter: <https://www.pewresearch.org/science/2018/07/26/public-views-of-gene-editing-for-babies-depend-on-how-it-would-be-used/>. Zugegriffen am 15.03.2023
- Pew Research Center (2020) Biotechnology research viewed with caution globally, but most support gene editing to treat disease. Unter: <https://www.pewresearch.org/science/2020/12/10/biotechnology-research-viewed-with-caution-globally-but-most-support-gene-editing-for-babies-to-treat-disease/>. Zugegriffen am 21.03.2023
- Pew Research Center (2022) AI and human enhancement: Americans’ openness is tempered by a range of concerns. Unter: https://www.pewresearch.org/internet/wp-content/uploads/sites/9/2022/03/PS_2022.03.17_AI-HE_REPORT.pdf. Zugegriffen am 21.03.2023
- Reich J et al (2015) Genomchirurgie beim Menschen – zur verantwortlichen Bewertung einer neuen Technologie. Analyse der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht. Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin
- Scheufele DA et al (2017) U.S. attitudes on human genome editing. *Science* 356(6351):553–554
- Shanks P (2020) A misleading poll on human genetic technologies. *Biopolitical Times*. Unter: <https://www.geneticsandsociety.org/biopolitical-times/misleading-poll-human-genetic-technologies>. Zugegriffen am 29.03.2023
- Wang J-H et al (2017) Public attitudes toward gene therapy in China. *Mol Ther Methods Clin Dev* 6:40–42
- Zhang X et al (2021) Before and after the Chinese gene-edited human babies: multiple discourses of gene editing in social media. *Public Underst Sci* 30(5):570–587

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.





Spotlight: Die Metaphernwelt der Molekularbiologie und molekularen Medizin

21

Hans-Jörg Rheinberger

Ich möchte diesen Zwischenruf dazu nutzen, ein wenig grundsätzlicher auf die Metaphernwelt der molekularen Biologie und Medizin sowohl im Wissenschaftsbereich als auch in den Medien einzugehen, denn beide sind nicht scharf voneinander zu trennen. Im Anschluss daran werde ich diese Überlegungen anhand von CRISPR/Cas exemplifizieren.

21.1 Ein Blick auf Metaphern in der Molekularbiologie

Metaphern haben in der Molekularbiologie eine lange Tradition – ein Grund dafür, dass uns viele von ihnen heute so leicht von den Lippen gehen und quasi Allgemeinut geworden sind. Als aus einem Amalgam der damaligen Disziplinen Genetik, Biochemie und Biophysik und unter Einbezug einer ganzen Reihe neuer Forschungstechnologien die Molekularbiologie entstand, ging damit interessanterweise ein ebensolches Amalgam aus neu importierten Metaphern für die Vererbungsvorgänge und ihre Steuerung in der Zelle einher.

Es kam damals zu einer ganz neuen Sprache, die man bis dahin in der Biologie nicht gesprochen hatte. Ihre Vokabeln stammten vorwiegend aus der Kybernetik, der Informationstheorie, den Kommunikationswissenschaften und der Linguistik. In die Biologie importiert, wurden sie zu Metaphern. Metaphern sind also nichts ein für alle Mal Gegebenes, sondern werden erst durch derartige Transfers zu solchen. Die heutige Welt, einschließlich der molekularen Biologie, so fasste damals der Molekularbiologe François Jacob am Pasteur-Institut in Paris die Situation zusammen, „besteht aus Botschaften, Codes, Informationen“ (Jacob 1972: 343).

H.-J. Rheinberger (✉)
Max-Planck-Institut für Wissenschaftsgeschichte, Berlin, Deutschland
e-mail: rheinbg@mpiwg-berlin.mpg.de

Bis zu diesem Zeitpunkt hatte in der Biologie ein Vokabular dominiert, das der Metaphernwelt der Mechanik des 19. und der Energetik des frühen 20. Jahrhunderts entnommen war. Bei seiner Einführung wurde das neu aufgespannte Bildfeld für molekulare Kernvorgänge durchaus kritisch als Alternative zu der vorangehenden, an Mechanik und Energetik orientierten Sprache verstanden (Wiener 1965).

In den 1960er- und 1970er-Jahren setzte sich dieses Vokabular nicht nur im Labor, sondern auch im Alltag durch. Man sprach jetzt nur noch vom Kopieren, Transkribieren, Übersetzen, vom genetischen Code und wie die importierten Vokabeln alle hießen. Als Akteure dieser Tätigkeiten wurden die Organismen selbst angesehen. Mit dem Beginn der Gentechnologie in den 1970er-Jahren und später noch verstärkt im Zusammenhang mit dem Humangenomprojekt ab den späten 1980er-Jahren machte diese Metaphernwelt dann aber so etwas wie eine mechanische Kehrtwende durch. Jetzt wurden die biologischen Prozesse als die eigentlichen Agenten in den Hintergrund geschoben und immer mehr und explizit als Tätigkeiten von Gentechnikern begriffen. Nun war es nicht mehr die Natur, der man Textförmigkeit und Schreibfähigkeit unterstellte, nun waren es die molekularen Ingenieure, die den genetischen Code nach Willkür veränderten. Das technische Machen hatte die neue Bilderwelt zurückerobert und ihr die Bedeutung der Kulturtechnik des Schreibens untergeschoben.

21.2 Grundsätzliches zu Metaphern in der Wissenschaft

Die Vorstellung, dass eine Wissenschaftssprache ohne Metaphern auskommen müsse, hat eine lange Tradition. Historisch gesehen erweist sie sich aber als unhaltbar. Selbst Grundbegriffe der Wissenschaften haben meist einen metaphorischen Ursprung; sie sind durch Begriffswanderung von einem Bereich in den anderen dorthin gelangt, wo sie nach angemessen langer Zeit dann als authentisch wahrgenommen werden.¹ So bestehen letztlich auch die Wissenschaftssprachen vorwiegend aus abgesunkenen Metaphern.

Ich will zwei historische Beispiele aus den Biowissenschaften herausgreifen, die vielleicht auf den ersten Blick überraschen, gerade weil die Begriffe uns heute völlig unmetaphorisch erscheinen in dem Kontext, in dem sie sich eingenistet haben. Der Begriff der Regulation, der aus der heutigen Stoffwechselbiologie und der molekularen Genetik nicht mehr wegzudenken ist, hat seinen Weg erst im Laufe des 19. Jahrhunderts aus der Dampfmaschinenteknik in die damals gerade im Entstehen begriffene Embryologie gefunden (Canguilhem 2017). Im Verlauf des 19. Jahrhunderts ist er dann *innerhalb* der Biologie noch einmal aus der Embryologie aus- und in die Stoffwechselphysiologie eingewandert, wo er sich zu Beginn des 20. Jahrhunderts zu einer zentralen Kategorie des Metabolismus ausweitete. In der

¹ Isabelle Stengers (1987) hat in diesem Zusammenhang treffend von „nomadisierenden Begriffen“ gesprochen.

Embryologie wurde er hingegen durch den Begriff der Differenzierung abgelöst, der seinerseits den Gesellschaftswissenschaften des 19. Jahrhunderts entlehnt war.

Das nächste Beispiel wird vielleicht noch mehr überraschen. Selbst der Begriff der Vererbung ist nicht genuin biologischen Ursprungs (Rheinberger und Müller-Wille 2009). Er fing erst im ausgehenden 18. Jahrhundert an, in der Biologie überhaupt eine Rolle zu spielen, und er setzte sich dann im Laufe des 19. Jahrhunderts durch. Vererbung im Sinne der Weitergabe materieller Partikel von einer Generation zur nächsten war ein Begriff, der ursprünglich aus dem Rechtswesen stammte und erst in der Biologie Fuß fasste, als man begann, das Erbgut als ein Substrat aufzufassen, das von einem Menschen zum anderen, von einer Generation zur anderen weitergereicht wurde. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts, als die Wissenschaft der Genetik – im Deutschen auch Vererbungswissenschaft genannt – entstand, dachte bereits niemand mehr an diesen metaphorischen Ursprung einer Kategorie, die für die gesamten Lebenswissenschaften im 20. Jahrhundert prägend wurde.

Wir können also festhalten: An Bruchstellen in der Geschichte der Wissenschaften, an denen etwas Neues in einem Wissensgebiet auftaucht, das sozusagen noch keinen Namen trägt, wird häufig das Neue nicht durch einen neuen Begriff markiert, sondern gewissermaßen gezähmt, indem man es unter Begriffe subsumiert, die aus anderen Bereichen bereits vertraut sind. Das ist im Prinzip auch das Wesen der Metapher. Im weiteren Verlauf der Geschichte gibt es dann zwei Optionen: Entweder die Metapher setzt sich fest, „sinkt ab“ und wird nicht mehr als solche empfunden; oder sie verschwindet wieder aus dem Fachvokabular. Ein Beispiel für Letzteres aus der Biologie wäre der Ausdruck „Zellenstaat“. Rudolf Virchow benutzte ihn in der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts als Metapher für den Organismus. Heute ist er aus dem Vokabular der Biologen wieder verschwunden. Ziel kann es also nicht sein, Metaphern in der Wissenschaft zu vermeiden, es muss vielmehr um zweierlei gehen: Erstens, zu verstehen, was die jeweiligen Metaphern leisten; und zweitens – ebenso wichtig –, zu verstehen, was sie beiläufig mittransportieren und damit gegebenenfalls auch verbergen. Die Verwendung von Metaphern ist Bestandteil der Wissenschaftsdynamik; sie wird von niemandem vorgeschrieben, sie ist ein ebenso dynamischer wie kontingenter Prozess.

21.3 Metaphern in der Wissenschaftskommunikation

Sowohl in der Berichterstattung über Wissenschaft für eine breitere Öffentlichkeit als auch in den vielen mehr oder weniger interaktiven medialen Formaten, die sich mit Wissenschaft auseinandersetzen, spielen Metaphern eine konstitutive Rolle. In der Regel schließen sie an Metaphern an, die auch in der Wissenschaft Verwendung finden. Während aber im Forschungsbereich der Metapherncharakter solcher Ausdrücke über einen längeren Zeitraum zumindest latent bewusst bleibt, verschwindet dieses Bewusstsein im Kommunikationsbereich meist rasch und vollständig.

Es darf dabei nicht vergessen werden, dass auch im Wissenschaftsraum selbst die Grenzen zur Alltagskommunikation fließend sind. Das gilt vor allem für zwei Bereiche: Zum einen betrifft es das in den letzten Jahrzehnten zur Routine gewordene Pressecommuniqué-Wesen. Hier geht es vor allem darum, Neuigkeiten oder sog. „Durchbrüche“ möglichst werbewirksam zu verkünden. Zum anderen betrifft es die ebenfalls in den letzten Jahrzehnten zum Normalfall gewordene Einwerbung von Geldern für Forschungsprojekte bei staatlichen oder privaten Förderagenturen. Im Wissenschaftlerjargon wird dieses Genre der Wissenschaftsprosa meist verharmlosend als „Antragslyrik“ bezeichnet.

In der allgemeinen gesellschaftlichen Kommunikation über Wissenschaft, ihre Ergebnisse und Anwendungen kommt aber noch stärker eine zentrale Leistung von Metaphern zum Tragen: Sie sind in der Lage und werden dazu verwendet, die Anschlussfähigkeit wissenschaftlicher Inhalte und Befunde an die Alltagswelt herzustellen. Das ist nötig, denn diese bewegen sich meist nicht mehr im Raum des Anschaulichen. Dabei hat man es aber immer mit einer Gratwanderung zu tun. Einerseits können Metaphern als Scharniere dienen, um den Blick auf die Wissenschaftswirklichkeit zu ermöglichen; andererseits können sie aber auch umgekehrt dazu führen, dass man in der Bilderwelt der Alltagswirklichkeit befangen bleibt.

Die Autoren des Kapitels zu Genome-Editing im letzten Gentechnologiebericht konstatieren: „Den sich rasant wandelnden und hoch spezialisierten Forschungsstand allgemeinverständlich darzustellen und dabei keine überzogenen Erwartungen und verzerrten Vorstellungen zu wecken, stellt sehr hohe Anforderungen an Wissenschaftskommunikation und -journalismus. [...] Der Rückgriff auf Metaphern zur Erläuterung wissenschaftlicher Methoden, Objekte und Technologien [ist dabei] gleichermaßen notwendig wie problematisch“ (Fehse et al. 2021). Und mit Bezug auf die Metapher des Editierens im Bereich des Genoms stellen sie fest: „Diese Metapher stellt die betreffenden komplexen biologischen Vorgänge in stark vereinfachender Form dar und lädt durch diesen Reduktionismus zu überzogenen Erwartungen hinsichtlich der Präzision, Sicherheit und Machbarkeit von gezielten therapeutischen und sonstigen Eingriffen ins Genom ein. [...] Des Weiteren geht die Kontextbezogenheit von Sachstandsbeschreibungen und die Relativität von Begriffen in der öffentlichen Kommunikation häufig verloren“ (Fehse et al. 2021: 225).

Damit sind wir bei der aktuellen Metaphernwelt von CRISPR/Cas angelangt. Die Stichworte in diesen zwei Passagen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Auf der Seite der Rezipienten:

- Überzogene Erwartungen
- Verzerrte Vorstellungen

Auf der Seite der Kommunikatoren:

- Vereinfachung/Reduktionismus
- Überbetonung von Präzision, Sicherheit, Machbarkeit
- Ausblenden des Kontextes
- Ausblenden der Relativität wissenschaftlicher Begriffe

21.4 Die Metaphernwelt von CRISPR/Cas, eine kritische Analyse

Der CRISPR/Cas-Komplex („Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats plus CRISPR-Associated Protein“) ist die gentechnische Abwandlung eines bakteriellen Immunabwehrsystems. Mit ihm zerschneidet das Bakterium die DNA von Bakterienviren, die in die Zelle eingedrungen sind, und macht sie damit unwirksam. In seiner gentechnischen Anwendung als molekulares Werkzeug ist das Ziel aber nicht die Zerschneidung, sondern die Veränderung der anvisierten DNA-Stelle im Genom. Das Schneiden ist hier nur der erste Schritt. Im zweiten Schritt fügen zelleigene Reparatursysteme die DNA in veränderter Form wieder zusammen.

Wie wird über dieses Verfahren in den Medien berichtet? Nach Sichtung der einschlägigen Literatur, sowohl der wissenschaftlichen als auch der populärwissenschaftlichen, ergeben sich in grober Einteilung zwei Bildfelder, denen die verwendeten Begriffe zugeordnet werden können. Das eine rankt sich im Wesentlichen um den Topos der Schrift und die damit verbundenen Aktivitäten des Schreibens, Kopierens und vor allem des Editierens, also des Ausbesserns. Das zweite Bildfeld bedient Metaphern, die aus dem chirurgischen und medizinischen Alltag stammen und jetzt auf Moleküle angewendet werden:

Bildfeld Schrift:

- Schriftsatz des Lebens
- Lesekopf
- Genome-Editing
- Programmieren

Bildfeld Chirurgie/Medizin:

- Genschere
- Genomchirurgie
- Molekulares Skalpell
- Skalpell statt Schrotflinte
- Molekulare Spritze

Beide Metapherngruppen machen Anleihen bei zwei Kulturtechniken, mit denen wir von alters her im Alltag vertraut sind: Schreibtechniken und medizinische Eingriffe. Gemeinsam sind ihnen die damit verbundenen performativen Assoziationen:

Performative Assoziationen:

- Passgenauigkeit
- Korrektur
- Präzision
- Zielgerichtetheit
- Treffsicherheit
- Steuerung
- Design

Zuweilen finden sich auch Elemente aus beiden Gruppen vereinigt. In den bildlichen Darstellungen ist eine solche Kopplung durchweg der Fall. Auf ihnen sind eigentlich immer Elemente beider Bildfelder vereinigt, und auch das performative Moment wird mit ins Bild geholt. Zwei Beispiele mögen hier genügen, die beide akademischen Stellungnahmen entnommen sind: das Titelblatt des Statements der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina (Abb. 21.1) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft zum Genome-Editing von 2015 (Abb. 21.2).

In keinem dieser Bilder kommt aber explizit vor, dass der CRISPR/Cas9-Prozess – in seiner gentechnischen Verwendung – wesentlich aus zwei Komponenten besteht, die beide fehleranfällig sind. Die erste Komponente besteht aus dem Andocken des Molekülkomplexes an die gewünschte Stelle im Genom („on target“). Dieser Schritt ist nur bedingt genau, da die RNA-Komponente des Komplexes, die an die DNA-Doppelhelix bindet, eine gewisse Toleranz aufweist. Es kann also auch zur Festsetzung des Schneidesystems an einer anderen Stelle im Genom kommen („off target“). Die zweite Komponente besteht aus der Reparatur der Schnittstelle, die gar nicht vom „maßgeschneiderten“ CRISPR/Cas-System bewerkstelligt wird, sondern vollständig von den zelleigenen Reparatursystemen übernommen wird und inhärent ungenau ist. Über diesen zweiten Schritt gibt es – bisher jedenfalls – entweder gar keine oder nur begrenzte Kontrolle. In diesen Bildern steht er jedoch meist im Zentrum. Es wird also unbedingte Präzision dort vorgetauscht, wo sie gar nicht oder nur bedingt vorhanden ist.

Das CRISPR/Cas-Verfahren hat inzwischen in die Zell- und Gentherapie Eingang gefunden, und mit ihm seine Metaphernwelt. Eines der zentralen Probleme besteht hier darin, die gentechnisch veränderten Zellen – wie etwa bei der CAR-T-Zelltherapie („chimeric antigen receptor T cells“) – gezielt an die gewünschten Orte zu dirigieren, bzw. die zum Einsatz kommenden molekularen Werkzeuge gezielt in den gewünschten Zellen zu deponieren. Um Letzteres zu erreichen, wird gegenwärtig an einem Verfahren gearbeitet, das sich wie bei CRISPR/Cas einen molekularen Mechanismus zunutze macht, den Bakterien entwickelt haben, um Proteine in eukaryotische Zellen einzuschleusen. Arbeiten über diese eCISs („extracellular contractile injection systems“) haben jüngst weltweites Aufsehen erregt (Kreitz et al. 2023). Der zitierte Artikel wurde in *Nature* am 29. März 2023 online veröffentlicht. Er spricht von einer „programmable protein delivery with a bacterial contractile system“. Die Mitteilung des Science Media Center (SMC) Germany machte daraus am selben Tag eine „programmierbare Mikronadel zur Zellinjektion“.² Und im Tagesspiegel, ebenfalls vom 29. März, wurde daraus eine „programmierbare molekulare Spritze“ (Berliner Tagesspiegel 2023). Hier kann man gut die leichten Verschiebungen beobachten, die von einem Forschungsartikel über ein wissenschaftliches Medienportal zur Aufbereitung des Sachverhalts in der Tagespresse führen. Auch die Metaphern, die hier bedient werden, lassen sich problemlos in den oben genannten Bildfeldern verorten.

²Siehe unter: <https://www.sciencemediacenter.de/alle-angebote/research-in-context/details/news/programmierbare-mikronadel-zur-zellinjektion/> [21.05.2023].



Leopoldina
Nationale Akademie
der Wissenschaften



September 2015
Stellungnahme | Statement

Chancen und Grenzen des *genome editing* *The opportunities and limits of genome editing*

Kooperationspartner:
DFG

Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina | www.leopoldina.org
Deutsche Forschungsgemeinschaft | www.dfg.de
acatech – Deutsche Akademie der Technikwissenschaften | www.acatech.de
Union der deutschen Akademien der Wissenschaften | www.akademienunion.de

Abb. 21.1 Titelblatt Stellungnahme Leopoldina et al. zu Genome-Editing
Hier sind es die Fingerspitzen, die Präzision zum Ausdruck bringen

Start > Themen > Biotechnologie / Medizin > Genome Editing

Genome Editing

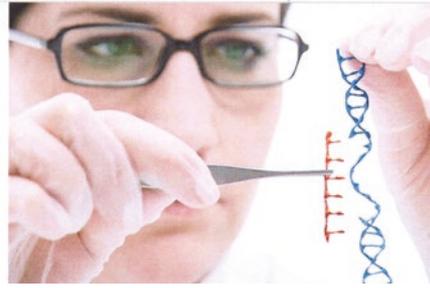


Abb. 21.2 Startseite TA Swiss zu Genome-Editing
Hier wird die Präzision durch eine Pinzette und eine Brille versinnbildlicht

Als Fazit kann man festhalten: Keine natürliche Sprache, aber auch keine Wissenschaftssprache, ob in Bild oder in Wort, kommt ohne Metaphern aus. Das Problem sind nicht die Metaphern selbst. Das Problem ist ihre unkritische und irreführende Verwendung. Man könnte auch sagen: Das Problem entsteht dort, wo die Metaphern aufhören, Metaphern zu sein und für bare Münze genommen werden.

Literatur

- Berliner Tagesspiegel (2023) Wird so bald der Krebs besiegt? 29.03.2023 Unter: <https://www.tagesspiegel.de/wissen/durchbruch-in-der-molekularen-medizin-eine-spritze-fur-krankzellen-9577487.html>. Zugegriffen am 17.05.2023
- Canguilhem G (2017) Regulation und Leben. In: Muhle M (Hrsg) (übersetzt von Ebke, T.) August Verlag, Berlin
- Fehse B et al (2021) Genome-Editing und Einzelzellanalyse. Neue Methoden und ihre Implikationen für Forschung, Anwendung und Gesellschaft. In: Fehse B et al (Hrsg) Fünfter Gentechnologiebericht. Sachstand und Perspektiven für Forschung und Anwendung. Nomos, Baden-Baden, S 219–250
- Jacob F (1972) Die Logik des Lebenden. Von der Urzeugung zum genetischen Code. (Übersetzt von Scherrer, J. & K.). Fischer, Frankfurt am Main
- Kreitz J et al (2023) Programmable protein delivery with a bacterial contractile injection system. *Nature* 616:357–364
- Rheinberger H-J, Müller-Wille S (2009) Vererbung. Geschichte und Kultur eines biologischen Konzepts. Fischer, Frankfurt am Main
- Stengers I (Hrsg) (1987) D'Une science à l'autre. Des concepts nomades. Editions du Seuil, Paris
- Wiener N (1965) Cybernetics, or control and communication in the animal and the machine. MIT Press, Cambridge, MA

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.



Dürfen Gentherapien so viel kosten? Ethische Bewertung der hohen Preise und des performanceorientierten Erstattungsmodells

22

Karla Alex und Julia König

22.1 Struktur des Kapitels

In diesem Kapitel wird untersucht, ob hohe Preise für Gentherapien¹ gerechtfertigt sind und ob die Problematik, die mit hohen Preisen verbunden ist, durch das Erstattungsmodell „pay for performance“ (P4P) behoben werden kann. Dazu wird zunächst beschrieben, wie Preise für neue Arzneimittel, zu denen auch Gentherapien zählen, in Deutschland festgelegt werden (Abschn. 22.2). Danach wird P4P als Beispiel für ein Erstattungsmodell vorgestellt (Abschn. 22.3).

Die anschließende ethische Analyse (Abschn. 22.4) prüft zunächst, ob sich durch P4P-Modelle das Recht auf Gesundheit und Gesundheitsversorgung aller Menschen nachhaltig garantieren lässt (Abschn. 22.4.1; vgl. zum „nachhaltigen Recht auf Gesundheit“ Alex 2021). Dann wird aufgezeigt, dass Kosten-Nutzen-Analysen zur Festlegung von Preisen für neue Gentherapien aus ethischer Sicht grundsätzlich

¹ „Ein Gentherapeutikum ist ein biologisches Arzneimittel, dessen Wirkstoff eine Nukleinsäure (Träger der Erbinformationen) enthält oder daraus besteht. Es wird eingesetzt, um eine Nukleinsäuresequenz zu regulieren, zu reparieren, zu ersetzen, hinzuzufügen oder zu entfernen. Die therapeutische, prophylaktische oder diagnostische Wirkung steht in unmittelbarem Zusammenhang mit der rekombinanten Nukleinsäuresequenz, die es enthält oder mit dem Produkt, das auf Basis dieser genetischen Information gebildet wird“ (siehe unter: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/gentherapeutika/gentherapeutika-node.html> [03.05.2023]).

K. Alex (✉) · J. König

Nationales Centrum für Tumorerkrankungen (NCT), NCT Heidelberg, eine Partnerschaft zwischen DKFZ und dem Universitätsklinikum Heidelberg, Medizinische Fakultät Heidelberg, Abteilung für Medizinische Onkologie, Sektion Translationale Medizinethik, Universität Heidelberg, Heidelberg, Deutschland
e-mail: Karla.Alex@med.uni-heidelberg.de

kritisch zu sehen sind und ein Problem für Zugangsgerechtigkeit und damit auch für die nachhaltige Garantie eines Rechts auf Gesundheit darstellen (Abschn. 22.4.2). Am Ende steht die Frage, ob P4P mit der Idee der Menschenwürde (Art. 1 I 1 GG) vereinbar ist (Abschn. 22.4.3; vgl. bereits König et al. 2020).

22.2 Wie kommen die Preise zustande?

Neue Gentherapien für seltene genetische Erkrankungen und Krebserkrankungen sind hochspezialisierte Behandlungsmethoden, die denjenigen, für die sie entwickelt wurden, großen Gesundheitsnutzen bringen und für sie lebensrettend sein können (van Overbeeke et al. 2021). In die Entwicklung der Therapien fließen viele personelle, zeitliche und letztlich finanzielle Ressourcen, die von der ersten Idee bis zur Prüfung in klinischen Zulassungsstudien mit hohen Risiken für Misserfolge verbunden sind (van Overbeeke et al. 2021; Witte und Greiner 2021; siehe auch Blache et al., Kap. 8). Daher verlangen die Hersteller der Therapien (siehe auch: Cohnen et al., Kap. 16) oft Preise in Millionenhöhe für das fertige Produkt (siehe Tab. 22.1), um bei erwartbar geringer Verkaufszahl die investierten Ressourcen aufzurechnen und in die Entwicklung weiterer neuer Therapien für seltene Erkrankungen investieren zu können (Witte und Greiner 2021). Zudem verfolgen sie grundsätzlich eine Gewinnabsicht (ibid.). Hersteller rechtfertigen die hohen Preise damit, dass innovative Einmaltherapien, wie etwa die Gentherapie der β -Thalassämie, einer Erkrankung des Blutes, deutliche finanzielle Einsparungen bedeuten könnten, da teure lebenslange Behandlungen wegfielen.² Es gibt länderspezifische Unterschiede in der Preisgestaltung (Jørgensen et al. 2020). Des Weiteren unterliegen die Preise für Gentherapien marktbedingten Schwankungen. Aufgrund der Patentschutzregelungen können die Preise nach Auslauf des Patentschutzes sinken (Witte und Greiner 2021). Wenn die Arzneimittel nicht mehr unter Patentschutz stehen, können andere Hersteller sie als sog. „Biosimilars“ anbieten, die die gleiche Wirkung haben.³ Das kann die Preise teilweise senken (Steiner et al. 2021).

Von der Europäischen Arzneimittelagentur („European Medicines Agency“, EMA) sind (Stand 27.04.2023) 14 Gentherapeutika für den europäischen Markt zugelassen.⁴ Diese gehören zur Gruppe Arzneimittel für neuartige Therapien („Advanced Therapy Medicinal Products“, ATMPs). Der bei Neuzulassung zu zahlende Preis wird in vielen europäischen Ländern meist erst Monate nach Marktzulassung in Verhandlungen endgültig festgesetzt, was den faktischen Zugang zu teuren neuen

²Siehe unter: <https://www.biopharmadive.com/news/bluebird-withdraw-zynteglo-germany-price/598689/> [07.05.2023]; <https://www.pfizer.de/newsroom/news-stories/gentherapie-die-ursache-seltener-erkrankungen-behandeln> [05.05.2023].

³Vgl. die Empfehlungen der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft zur Behandlung mit Biosimilars. Siehe unter: https://www.akdae.de/fileadmin/user_upload/akdae/Arzneimitteltherapie/LF/PDF/Biosimilars-KF.pdf [30.05.2023].

⁴Siehe unter: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/gentherapeutika/gentherapeutika-node.html> [04.05.2023]; <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/glybera> [04.05.2023].

Tab. 22.1 Liste der aktuell in Deutschland zugelassenen Gentherapeutika und ihrer Therapiekosten laut G-BA (Angaben ohne Gewähr)^a

Liste der von der EMA aktuell zugelassenen Gentherapeutika (alphabetisch nach Handelsname)	Wirkstoff	Anwendungsbereich	Therapiekosten (aktuell, laut G-BA; vor Verhandlungen zwischen Herstellern und Krankenkassen)
Abecma®	Idecabtagen vicleucel (CAR-T-Zelltherapie)	Onkologische Erkrankungen (Multiples Myelom, mind. 3 Vortherapien)	350.000 € [1]
Breyanzi®	Lisocabtagen maraleucel (CAR-T-Zelltherapie)	Onkologische Erkrankungen (Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom, primär mediastinales großzelliges B-Zell-Lymphom und follikuläres Lymphom Grad 3B, nach ≥ 2 Vortherapien)	345.000 € [2]
Carvykti®	Ciltacabtagene autoleucel (CAR-T-Zelltherapie)	Onkologische Erkrankungen (Multiples Myelom, mind. 3 Vortherapien)	420.000€ [3]
Hemgenix®	Etranacogen Dezaparovec	Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe: Hämophilie B (angeborener Faktor-IX-Mangel)	Daten nicht vorliegend [4]; Einmaldosis in den USA 3,5 Mio. US\$ [5]
Imlygic®	Talimogen laherparepvec	Onkologische Erkrankungen (Melanom, Stadium IIIB, IIIC, IVMI1a)	142.563,65 € / 72.287,80 € – 289.151,20 € / 93.108,37 € (Preise variieren je nach Indikation) [6]
Kymriah®	Tisagenlecleucel (CAR-T-Zelltherapie)	Onkologische Erkrankungen (Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom)	275.000 € [7]
Libmeldy®	Atidarsagen autotemcel OTL-200	Stoffwechselkrankheiten (Metachromatische Leukodystrophie mit biallelischer Mutation im ARSA-Gen)	2.875.000 Mio. € [8]
Luxturna®	Voretigen Neparovec	Augenerkrankungen (Erbliche Netzhautdystrophie)	702.100 € [9]
Roctavian®	Valoctocogen Roxaparovec	Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe (Hämophilie A)	2.143.958,40 € [10]

(Fortsetzung)

Tab. 22.1 (Fortsetzung)

Liste der von der EMA aktuell zugelassenen Gentherapeutika (alphabetisch nach Handelsname)	Wirkstoff	Anwendungsbereich	Therapiekosten (aktuell, laut G-BA; vor Verhandlungen zwischen Herstellern und Krankenkassen)
Strimvelis®	autologe, CD34+ -angereicherte Zellfraktion, die CD34+ -Zellen enthält, die mit einem gamma-retroviralen Vektor transduziert wurden, der für die humane Adenosin-Desaminase (ADA)-cDNA-Sequenz aus humanen hämatopoetischen Stamm-/Progenitorzellen (CD34+) codiert [11]	schwere kombinierte Immundefekte aufgrund von Adenosin-Desaminase-Mangel (ADA-SCID), wenn kein geeigneter Human-Leukozyten-Antigen (HLA)-kompatibler Stammzellspender aus der Familie verfügbar ist [11]	Keine Angaben gefunden
Tecartus®	Brexucabtagen-Autoleucel/ Autologe Anti-CD19-transduzierte CD3+ Zellen	Onkologische Erkrankungen (Mantelzell-Lymphom, ab der 2. Linie)	360.000 € [12]
Upstaza®	Eladocagene Exuparovec	Stoffwechselkrankheiten (Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase(AADC)-Mangel, ≥ 18 Monate)	4.165.000 € [13]
Yescarta®	Axicabtagen-Ciloleucel (CAR-T-Zelltherapie)	Onkologische Erkrankungen (Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom und primäres mediastinales großzelliges B-Zell-Lymphom, nach mind. 2 Vortherapien)	282.000 € [14]
Zolgensma®	Onasemnogen-Abeparovec	Krankheiten des Nervensystems (Spinale Muskelatrophie)	2.314.550 € [15]

Tab. 22.1 (Fortsetzung)

Abkürzungen: EMA: Europäische Arzneimittelagentur; G-BA: Gemeinsamer Bundesausschuss; CAR-T-Zelltherapie: Chimeric Antigen Rezeptor-T-Zelltherapie; IQWiG: Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen.

*Referenzen: für Spalte 1: <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/atmp/gentherapeutika/gentherapeutika-node.html> [23.10.2023] und https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/newsroom/veroeffentlichungen-arzneimittel/rhb/21-03-18-rhb-strimvelis.pdf?__blob=publicationFile&v=3 [23.10.2023] [04.05.2023]; für Spalten 2 bis 4: [1] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/781/>; [2] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/869/>; [3] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/924/>; [4] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/953/>; [5] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/953/> und: EU gets first hemophilia B gene therapy. In: Nat Biotechnol 41: 438 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01760-5>; [6] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/243/>; [7] https://www.g-ba.de/downloads/39-261-4456/2020-09-17_AM-RL-XII_Tisagenlecleucel_DLBC_L_D-530_BAnz.pdf; [8] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/684/>; [9] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/813/>; [10] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/877/>; [11] https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/newsroom/veroeffentlichungen-arzneimittel/rhb/21-03-18-rhb-strimvelis.pdf?__blob=publicationFile&v=3; [12] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/657/>; [13] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/868/>; [14] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/833/>; [15] <https://www.g-ba.de/bewertungsverfahren/nutzenbewertung/689/> [Zugriff zu allen Internetlinks: 23.10.2023].

Gentherapien in Ländern, in denen erst nach Preiseinigung Erstattungsfähigkeit gegeben ist, deutlich erschwert (Wasem et al. 2021: 22; Bomhof et al. 2022). In Deutschland sind alle ATMPs nach Marktzulassung von den gesetzlichen Krankenkassenversicherungen (GKV) erstattungspflichtig (Wasem et al. 2021). Der Preis für Gentherapien bemisst sich in Deutschland zunächst nach der vom Hersteller festgelegten bzw. mit den GKV und ihren Spitzenverbänden vereinbarten Summe (Jørgensen et al. 2020), wird dann aber neu verhandelt, nachdem eine sog. frühe Nutzenbewertung der ATMPs durch den Gemeinsamen Bundesausschuss (G-BA) vorgenommen wurde. Dies ist ein Health-Technology-Assessment nach folgendem Maßstab:

„Der Gemeinsame Bundesausschuss bewertet den Nutzen von erstattungsfähigen Arzneimitteln mit neuen Wirkstoffen. Hierzu gehört insbesondere die Bewertung des Zusatznutzens gegenüber der zweckmäßigen Vergleichstherapie, des Ausmaßes des Zusatznutzens und seiner therapeutischen Bedeutung“. (§ 35a I 1 SGB V)

Wenn die frühe Nutzenbewertung abgeschlossen ist, finden die Preisbildungsverhandlungen zwischen GKV und Herstellern statt oder werden fortgesetzt. Diese Verhandlungen orientieren sich vor allem am durch den G-BA festgestellten Grad des Zusatznutzens. Arzneimittel ohne Zusatznutzen werden einer Festbetragsgruppe zugeordnet. Fehlt diese, orientiert sich der verhandelte Preis an den Kosten der Vergleichstherapie. Auf dieser Grundlage wird versucht, eine Einigung zwischen GKV-Verbänden und Hersteller zu erreichen. Kann keine Einigung erzielt werden, entscheidet ein Schiedsgericht (Witte und Greiner 2021). Dem Hersteller steht es frei, das Medikament vom Markt zu nehmen (oder dem Markt vorzuent-

halten), sollte er sich mit den GKV nicht auf einen Preis einigen (Witte und Greiner 2021: 6).⁵

Eine Liste mit den aktuell in Deutschland zugelassenen Gentherapeutika sowie den vom G-BA angegebenen Therapiekosten findet sich in Tab. 22.1. Es wird deutlich, dass Preise in Millionenhöhe keine Seltenheit sind.

Van Overbeek et al. (2021) fassen in einer systematischen Überblicksarbeit die Forschungsliteratur zu mit neuen Gentherapien verbundenen ökonomischen und anderen Herausforderungen bei der Einführung der Therapien auf dem Markt zusammen. Dabei wird deutlich, dass Gesundheitssysteme in Europa, USA und Kanada durch neue Gentherapeutika vor viele ökonomische Herausforderungen gestellt werden. Die größte Herausforderung stellen sicherlich die hohen initialen Kosten dar, die mit einer oft nur einmaligen Gabe einer neuen Therapie verbunden sind. Darüber hinaus können aber weitere Zusatzkosten auftreten, die zum Zeitpunkt der Anwendung der Gentherapie noch unbekannt sind. Dass bei Behandlungsbeginn Kosten für ggf. nötige Folgetherapien unklar sind, ist sicherlich kein Alleinstellungsmerkmal von Gentherapien, jedoch ist eine unbekannt Summe an Mehrkosten gerade dann besonders relevant, wenn die initialen Kosten, wie im Fall neuer Gentherapien, bereits sehr hoch sind (van Overbeek et al. 2021). Letztlich sind es dann doch wieder die hohen initialen Kosten, die das Problem darstellen. Zudem ist, so van Overbeek et al. (2021) weiter, auch die Unklarheit darüber, ob eine Gentherapie hält, was sie verspricht, eine ökonomische Herausforderung, die die Markteinführung erschwert. Der Prozess in Deutschland, der eine frühe Nutzenbewertung mit Prüfung des Zusatznutzens, wie oben dargestellt, erfordert, bevor finale Preisverhandlungen stattfinden, illustriert dies. Eine weitere ökonomische Herausforderung, die van Overbeek et al. beschreiben, besteht in der Ungewissheit darüber, ob die effektiv entstandenen Kosten in angemessenem Verhältnis zu den durch die Gentherapie eingesparten Kosten für alternative Behandlungs- und Betreuungsangebote stehen (van Overbeek et al. 2021).

⁵Ein Beispiel ist die gescheiterte Preisverhandlung zwischen dem Hersteller Bluebird und den deutschen GKV für das Gentherapeutikum Zynteglo® („Betibeglogene autotemcel“) zur Behandlung der β -Thalassämie, einer Erkrankung des Blutes. Bluebird verlangte einen Preis von 1.580.000 € und schlug dafür eine Zahlung von zunächst 315.000 € vor. Die restliche Summe sollte bei anhaltendem Erfolg des Gentherapeutikums, das nur einmal gegeben wird, in vier weiteren jährlichen Raten abgegolten werden. Bluebird argumentierte, dass die hohen Kosten gerechtfertigt seien, da durch die Einmalmedikation lebenslange teure Behandlungen eingespart würden (siehe unter: <https://thalassaemia.org.cy/it/news/bluebird-puts-e1-57m-price-on-gene-therapy-zynteglo/> [07.05.2023]; <https://www.biopharmadive.com/news/bluebird-withdraw-zynteglo-germany-price/598689/> [07.05.2023]; Ronco et al. 2021; siehe auch Morgan et al., Kap. 3).

Zudem ist zu bedenken, dass zur Behandlung der β -Thalassämie grundsätzlich auch eine allogene Stammzelltransplantation von einer:m gesunden passenden Spender:in in Frage kommt. Diese zur Gabe von Zynteglo® alternative Behandlungsmethode kostet, soweit uns bekannt, in etwa 300.000 €, was der ersten (und bei nicht anhaltendem Erfolg einzigen) Rate für Zynteglo® entsprochen hätte, und ist mit einem besser abzuschätzenden Verhältnis von Risiken zu erhofftem Nutzen verbunden, als es Zynteglo® zum Zeitpunkt der Preisverhandlungen war. Dies könnte ein Grund dafür gewesen sein, dass die GKV nicht bereit waren, initial den vollen Preis für Zynteglo® zu zahlen, dass P4P erwogen wurde, aber letztlich scheiterte.

22.3 Wie können die Preise bezahlt werden? Beispiel P4P für CAR-T-Zelltherapie

Um die hohen Preise für Gentherapien finanzieren zu können, werden neue Erstattungsmodelle diskutiert (Wasem et al. 2021). Eines davon ist „pay for performance“ (P4P). P4P ist eine „Methode zur Vergütung von Versorgungsleistungen, bei der die Höhe der Vergütung davon abhängig gemacht wird, dass definierte Erfolgsziele erreicht werden.“⁶ Das ergebnisorientierte Erstattungsmodell („outcomes-/performance-based reimbursement“) P4P ist eine Form der wertbasierten Bepreisung („value-based pricing“) (Buch et al. 2021; Gonçalves 2022). Ergebnisorientierte Bepreisung wird für die Erstattung neuer Gentherapien in der Krebsmedizin (CAR-T-Zelltherapien) seit einigen Jahren auch in Europa (Deutschland, Italien, Spanien, Frankreich, Vereinigtes Königreich) genutzt (Jørgensen et al. 2020). Mit P4P sollen initiale Unsicherheiten adressiert werden, die im Rahmen der Erstattungsverhandlungen nach der Zulassung bei Markteintritt auftreten (Wasem et al. 2021), und die finanzielle Verantwortung soll zwischen Hersteller und Krankenkassen geteilt werden. Eine Alternative zu ergebnisorientierten Erstattungsmodellen, um hohe Preise für neue Gentherapien zu senken, stellen individuelle Rabattvereinbarungen zwischen Herstellern und GKV dar (Jørgensen et al. 2020). Diese sind jedoch i. d. R. nicht öffentlich bekannt. Die Intransparenz führt dazu, dass sowohl eine ethische als auch eine öffentliche und gesundheitsökonomische Diskussion erschwert wird. Intransparenz in der Preisgestaltung und in Bezug auf nicht öffentliche Rabattvereinbarungen wird auch in der Literatur kritisch gesehen (van Overbeeke et al. 2021; Gonçalves 2022).

Es gibt unterschiedliche Arten der ergebnisorientierten Erstattung nach dem Modell des P4P. Ein Beispiel stellen Vereinbarungen dar, die die Zahlung der Gesamtsumme eines Medikamentes in mehreren Raten vorsehen, die nur dann fällig werden, wenn die Wirkung anhält (Beispiel Zynteglo®, siehe Fn. 5). Ein weiteres Beispiel für P4P stellen Vereinbarungen dar, die vorsehen, dass der Gesamtpreis zunächst gezahlt wird, aber bei ausbleibendem Erfolg des Medikamentes ein Teilpreis zurückerstattet wird. Das könnte man vielleicht treffender unter den Begriff „Non-pay for non-performance“ (Minderzahlungen bei Qualitätsdefiziten)⁷ fassen. Jedoch stellen P4P und „non-pay for non-performance“ zwei Seiten derselben Medaille dar.⁸ Wir werden, da dieser Begriff gebräuchlicher ist, im Folgenden nur

⁶Siehe unter: https://aok-bv.de/lexikon/p/index_06435.html [05.05.2023].

⁷Siehe unter: https://aok-bv.de/lexikon/p/index_06435.html [05.05.2023].

⁸Zahlung für Erfolg (P4P) und Nichtzahlung für Nichterfolg („non-pay for non-performance“) sind zwar zwei Seiten derselben Medaille. Aus ethischer Sicht könnte es aber einen Unterschied machen, ob P4P als Jahreszahlung (Zynteglo®; siehe Fn. 5 oben) oder Teilerstattung am Jahrestag (Kymriah®, siehe hier, Abschn. 22.3) angeboten wird. Aus betriebswirtschaftlicher Sicht macht es zudem einen Unterschied, ob der Kostenträger (z. B. eine GKV) eine (weitere) Zahlung verweigern kann oder der Hersteller die Erstattung eines Teilpreises verweigern kann. Denn, muss der Kostenträger in Vorleistung treten, um den vollen Preis des Herstellers zu bezahlen, den er dann bei Misserfolg erstattet bekommt, ist der Kostenträger dadurch zunächst deutlich stärker finanziell belastet als in Fällen, in denen eine erfolgsabhängige Jahreszahlung vereinbart wurde.

von P4P (nicht von „non-pay for non-performance“) sprechen und verwenden synonym auch die Begriffe „performanceorientierte Erstattung“ und „ergebnisorientierte Erstattung“. Die Gründe für die „Minderzahlung“ und was genau „Performance“ im P4P-Modell bedeutet, werden nun exemplarisch erläutert.

P4P wurde auch in Deutschland im Rahmen der Zulassung für die CAR-T-Zelltherapie während der frühen Nutzenbewertung angewendet (Jørgensen et al. 2020; König et al. 2020; Gonçalves 2022).⁹

Bei der CAR-T-Zelltherapie handelt es sich um eine zelluläre Therapie mit T-Zellen, die genetisch modifiziert wurden, um einen chimären Antigenrezeptor zu exprimieren. Den Patient:innen werden hierfür eigene T-Zellen (spezialisierte Zellen des Immunsystems) entnommen. Diese werden genetisch verändert und wieder in die Patient:innen rücktransfundiert, d. h. über das Blut wieder in den Körper eingebracht (Kochenderfer et al. 2009; siehe auch Harrer/Abken, Kap. 10). Die CAR-T-Zelltherapie ist eine innovative neue Behandlungsmethode, die zur Behandlung unterschiedlicher Krebsarten bei Kindern sowie Erwachsenen zum Einsatz kommt (siehe Tab. 22.1 zu den zugelassenen Anwendungsgebieten). Sie hat das Potenzial, bei Betroffenen einen deutlichen Zugewinn an Lebenszeit und Lebensqualität zu generieren oder diese sogar von der betreffenden Krebserkrankung zu heilen (siehe Neelapu et al. 2018). Die CAR-T-Zelltherapie ist, je nach Produkt, Patient:innenkollektiv und Diagnose, erst ab der zweiten Therapielinie zugelassen. Das hat zur Folge, dass sie in manchen Fällen auch eine sog. „Letzt-Instanz-Therapie“ ist. Das heißt, sie kommt dann zum Einsatz, wenn keine andere Therapie mehr zur Verfügung steht.

Der vom Hersteller festgesetzte Preis des CAR-T-Zelltherapeutikums Kymriah® (Tisagenlecleucel) betrug auf dem deutschen Markt zunächst 320.000 €. ¹⁰ 2019 haben sich die Pharmafirmen Novartis und Gilead jedoch mit verschiedenen GKV-Vereinigungen darauf geeinigt, den GKV einen Teil des Preises zurückzuerstatten, wenn Kymriah® (Novartis) bzw. Yescarta® (Axicabtagene ciloleucel; Gilead) ein bestimmtes Therapieziel der individuellen Patient:innen, die das Medikament erhalten haben, nicht erreicht. Dieses Therapieziel war das Überleben über einen definierten Zeitraum. Die im Fall des Nichterfolgs erlassene Summe war nicht öffentlich bekannt. Jørgensen et al. (2020: 4) vermuten basierend auf Recherchen („based on our primary research“, *ibid.*), dass die Zeitspanne, an der das Überleben ge-

⁹ Aktuell wird P4P für die CAR-T-Zelltherapie in Deutschland nicht angewendet. So findet sich bei *keinem* der zugelassenen CAR-T-Zelltherapeutika ein Hinweis auf Vereinbarungen zu P4P unter: https://www.gkv-spitzenverband.de/krankenversicherung/arzneimittel/verhandlungen_nach_amnog/ebv_130b/ebv_nach_130b.jsp [08.05.2023]. Es findet sich allerdings für Alofisel® (Derivadstrocel) ein solcher Hinweis (unter: https://www.gkv-spitzenverband.de/media/dokumente/krankenversicherung_1/arzneimittel/amnog_sonst_vb/18031sv20180601.pdf [08.05.2023]).

¹⁰ Siehe unter: https://www.g-ba.de/downloads/39-261-3700/2019-03-07_AM-RL-XII_Tisagenlecleucel-DLBCL_D-375_BAnz.pdf [05.05.2023].

messen wurde, 12 Monate und der erlassene Preis 50 % betragen. Das hätte bedeutet, dass z. B. für Kymriah® zunächst der volle Preis von 320.000 € fällig geworden wäre. Wenn Patient:innen nach (z. B.) einem Jahr nicht mehr leben (und an der mit dem CAR-T-Zelltherapeutikum somit „erfolglos“ behandelten Erkrankung versterben), wäre eine (nicht öffentlich bekannte) Summe (z. B. die Hälfte) zurückerstattet worden. Das heißt, im Falle erfolgloser Therapie würde letztlich weniger als 320.000 € gezahlt. Somit hätte sich der Preis für Kymriah® zusammengesetzt aus Summe X, die in beiden Fällen (Überleben und Nichtüberleben) unter dem Strich hätte gezahlt werden müssen, z. B. 160.000 €, und aus Summe Y, die nur im Falle von Überleben unter dem Strich zusätzlich gezahlt hätte werden müssen (bzw. nicht rückerstattet worden wäre), z. B. weitere 160.000 €.

22.4 Wie sind die hohen Preise und wie ist P4P ethisch zu bewerten?

22.4.1 P4P vs. „nachhaltiges Recht auf Gesundheit“

Das Recht auf Gesundheit ist ein Recht aller Menschen, die heute und in Zukunft leben (werden), Zugang zu den Lebensbedingungen zu erhalten, die ihre Gesundheit bewahren und befördern. Von den Vereinten Nationen (United Nations, UN) wird es daher als universales Recht bezeichnet (ICESCR 1966; CESCR 2000). Man kann dieses Recht aufgrund seiner Universalität als Recht verstehen, das nachhaltig gesichert werden muss. Man kann somit von dem Ideal der Garantie eines „nachhaltigen Rechts auf Gesundheit“ (Alex 2021) sprechen, wie es eine von uns in einer anderen Arbeit formuliert hat. Diese Arbeit (Alex 2021) wird im Folgenden zur Beantwortung der Fragestellung des Kapitels („Dürfen Gentherapien so viel kosten?“) herangezogen.¹¹ Der Begriff *Nachhaltigkeit* ist in Alex (2021) von einer wirtschaftsethischen Nachhaltigkeitskonzeption (nach Elkington 1999) und von dem Nachhaltigkeitsbegriff in der Umweltethik (nach WCED 1987, einem Dokument der UN) geprägt.

Wichtig für den Begriff der Nachhaltigkeit im wirtschaftsethischen Diskurs ist dreierlei. Nach Elkington können Unternehmen genau dann „nachhaltig“ genannt werden, wenn sie erstens ökonomisch sinnvolle Entscheidungen treffen (was für gewinnorientierte Unternehmen wie für Unternehmen ohne Gewinnabsicht gleichermaßen gilt), dabei aber zweitens aktiv zum Umweltschutz beitragen und drittens auch aktiv zur Verbesserung der sozialen Lebensbedingungen beitragen (Elkington 1999). Die Aspekte zwei (positive Auswirkungen auf die Umwelt) und drei (positive Auswirkungen auf die Gesellschaft) definiert Elkington (1999) dabei als gleich-

¹¹ Für die über die genannten völkerrechtlichen Grundlagen hinausgehenden normativen Grundlagen dieses Rechtes verweisen wir auf die detaillierten Erläuterungen in Alex (2021, vor allem Abschn. 1, 2.1 und 2.4).

bedeutend mit dem Ziel der ökonomisch sinnvollen Unternehmensführung. Das heißt, ein Unternehmen, bei dem allein Gewinnmaximierung das Ziel ist, kann nie „nachhaltig“ genannt werden. Umgekehrt heißt es aber auch, dass gewinnorientierte Unternehmen in einem durch Auswirkungen auf Umwelt und Gesellschaft begrenzten Rahmen nach Elkington auch wirtschaftliche Ziele verfolgen können. Die drei Aspekte ökonomische, Umwelt- und soziale Faktoren wurden in das Konzept eines „nachhaltigen Rechts auf Gesundheit“ (Alex 2021) übernommen, was den Diskurs zum Nachhaltigkeitsbegriff aus der Wirtschaftsethik in die Medizinethik sowie in den Bereich der Diskussion um Rechte, die in der Medizinethik eine Rolle spielen (nämlich das Recht auf Gesundheit), überträgt. Neben den drei Aspekten des Nachhaltigkeitsbegriffs nach Elkington ist das Verständnis von Nachhaltigkeit, genauer: nachhaltiger Entwicklung (auch hier sieht man wiederum den ökonomischen Aspekt) der UN für das neue Konzept des „nachhaltigen Rechts auf Gesundheit“ zentral.

Nachhaltige Entwicklung wird von den UN als „Entwicklung, die die Bedürfnisse gegenwärtiger Generationen erfüllt, ohne zukünftigen Generationen die Fähigkeit zu nehmen, ihre Bedürfnisse zu erfüllen“ (WCED 1987) verstanden. Elementar ist dabei die Sicherung der Grundbedürfnisse.

Gemäß dem Konzept eines „nachhaltigen Rechts auf Gesundheit“ (Alex 2021) kann ein Recht daher genau dann „nachhaltig“ genannt werden, wenn es zwei Bedingungen erfüllt: Das Recht muss erstens sowohl gegenwärtigen als auch zukünftigen Generationen zustehen. Das ist beim Recht auf Gesundheit wie bei allen Menschenrechten (da diese universal sind) der Fall (ICESCR 1966; CESCR 2000). Um „nachhaltig“ genannt werden zu können, muss ein Recht zweitens in einem Anspruch der Rechtsträger (das sind beim Recht auf Gesundheit, wie gesagt, alle Menschen) darauf bestehen, dass bestimmte ökonomische, soziale und Umweltbedingungen erhalten oder geschaffen werden. Diese zweite Bedingung ergibt sich aus dem oben beschriebenen Verständnis davon, was der Begriff der Nachhaltigkeit umfasst, nämlich Berücksichtigung von ökonomischen, Umwelt- und sozialen Aspekten. Anders gesagt: Wenn man in einer Sache diese drei Aspekte findet, dann ist sie, daran gemessen wie „Nachhaltigkeit“ in der ethischen Debatte verstanden wird, eine nachhaltige Sache. In Alex (2021) hat eine von uns somit festgestellt, dass das Recht auf Gesundheit eine solche Sache ist. Denn das Recht auf Gesundheit (ICESCR 1966; CESCR 2000) ist gerade mit einem solchen Anspruch verbunden nämlich einem Anspruch der Rechtsträger darauf, dass bestimmte ökonomische, soziale und Umweltbedingungen, die ‚gesund machen‘, erhalten oder geschaffen werden. Da das Recht auf Gesundheit zudem allen Menschen zukommt, ist das Recht auf Gesundheit ein „nachhaltiges Recht“. Das heißt, wenn man bei dem Recht auf Gesundheit von einem „nachhaltigen Recht auf Gesundheit“ spricht, hat man ganz genau auf den Begriff gebracht, was mit diesem Recht laut UN (ICESCR 1966; CESCR 2000) verbunden ist. Man kann das Konzept der UN von „nachhaltiger Entwicklung“ (WCED 1987) somit auf ein Konzept eines „nachhaltigen Rechts auf Gesundheit“ ausweiten. In dem Begriff eines universalen Rechts auf Gesundheit der

UN ist der Begriff eines nachhaltigen Rechts auf Gesundheit damit enthalten. Dies wird in Alex (2021) noch konkretisiert, indem dort zwischen Rechten Einzelner und Rechten aller differenziert wird.¹² Für das nachhaltige Recht auf Gesundheit gilt somit:

- (1) Es ist ein Recht Einzelner.
- (2) Es ist zugleich ein Recht aller, einschließlich zukünftiger Generationen.
- (3) Das Recht beinhaltet einen Anspruch darauf, dass ökonomische Faktoren zu seiner Umsetzung berücksichtigt werden. Dabei darf aber, genau wie auch im Fall der Nachhaltigkeitsdefinition von Elkington (1999; siehe oben), die Gewinnmaximierung nicht in den Vordergrund treten, sondern finanzielle Aspekte dürfen nur insoweit berücksichtigt werden, als sie zweckdienlich sind, um Gesundheit zu fördern.¹³
- (4) Das Recht beinhaltet einen Anspruch darauf, dass die Umwelt geschützt wird.

Die Berücksichtigung von Umweltfaktoren (4) ist grundsätzlich Teil des nachhaltigen Rechts auf Gesundheit, nicht aber auf Gesundheitsversorgung, da das nachhaltige Recht auf Gesundheitsversorgung nur einer von mehreren Bestandteilen des nachhaltigen Rechts auf Gesundheit ist. Das Recht auf Gesundheit erhaltende/fördernde Umweltbedingungen ist ein gleichrangiger, weiterer Bestandteil (Alex 2021: 41). Wir untersuchen nun, ob das P4P-Modell zur Erstattung von Gentherapien dem Anspruch gerecht wird, ein nachhaltiges Recht auf Gesundheitsversorgung zu garantieren. Der Einfachheit halber sprechen wir jedoch nur von einem nachhaltigen Recht auf *Gesundheit* (meinen damit jedoch in der nachfolgenden Analyse ausschließlich das Recht auf Gesundheitsversorgung, und nicht etwa das Recht auf Erhalt von bestimmten Umweltbedingungen). Das heißt, wir untersuchen, ob P4P dreierlei gewährleisten kann: Rechte einzelner Gruppen, z. B. von Menschen mit seltenen Erkrankungen, auf Zugang zu vorhandenen Gentherapien (1), Rechte aller Menschen auf Gesundheitsversorgung (2), Berücksichtigung ökonomischer Faktoren nur insoweit, als sie (1) und (2) dienen (3). Um zu prüfen, ob P4P mit einem nachhaltigen Recht auf Gesundheit (wie genannt, immer ausschließlich bezogen auf das Recht auf Gesundheitsversorgung) vereinbar ist, sehen wir uns zwei Situationen an: einmal die Situation, in der die durch P4P finanzierten Gentherapien eher nicht so

¹²Für die konkrete Argumentation, siehe insbesondere Abschnitt 2.4 in Alex (2021).

¹³Siehe zur Begründung: „So zu handeln, dass die Gesundheit eines jeden gefördert wird, unabhängig davon, um wessen Gesundheit es sich handelt, hat einen ‚objektiven Grund‘. Die Achtung des Eigenwerts eines jeden Menschen steht an erster Stelle. Daher erscheint es vernünftig zu argumentieren, dass jede Entscheidung, die den Eigenwert eines gegenwärtigen oder zukünftigen Individuums nicht nur indirekt, sondern direkt missachtet, nicht zu rechtfertigen ist. Nur wenn es keine solche Missachtung gibt, erfordert das akteursneutrale Recht der Gesellschaft (heute und in Zukunft) die Einbeziehung ökonomischer Diskussionen und die Suche nach einem Gesundheitssystem (und einer gesundheitsbezogenen Wirtschaftsform), das universell zugänglich ist und so lange wie möglich aufrechterhalten werden kann (vgl. Reidpath et al. 2015)“ (Alex 2021: 44; im Original englischsprachig; Übersetzung K. A.).

gute Ergebnisse erzielen, zum anderen die Situation, in der sie relativ gute Ergebnisse erzielen.

Vorab möchten wir aber noch bemerken, dass es uns hier um die Frage geht, ob das Recht auf Gesundheit nachhaltig sichergestellt werden kann, wenn P4P angewendet wird, das heißt: ob das nachhaltige Recht auf Gesundheit mittels P4P geschützt werden kann. Das beinhaltet aber selbstverständlich ein Gesundheitssystem, das finanziell stabil ist. Pharmazeutische Unternehmen müssten, um selbst „nachhaltig“ genannt werden zu können, Preise neuer Gentherapien immer so gering wie möglich halten, um den Zugang zu garantieren. Ob und warum pharmazeutische Unternehmen (wie alle Unternehmen) aus ethischer, und zwar gerade auch aus wirtschaftsethischer, Sicht nachhaltig wirtschaften sollen, ist eine Debatte, die wir hier nicht führen (siehe nochmals Elkington 1999). Grundsätzlich wird also nun geprüft, ob P4P eine Möglichkeit darstellt, unabhängig davon, ob ein pharmazeutisches Unternehmen nachhaltig wirtschaftet, ein nachhaltiges *Recht* aller auf Gesundheit zu garantieren.

Wenn die Therapie in den meisten Fällen nicht den gewünschten Erfolg zeigt, kommt es bei P4P oft zu einer Rückerstattung, womit das Gesundheitssystem finanziell weniger stark belastet wird, als wenn für die (im Fall, den wir uns für den Moment ansehen, wenig wirksame) Therapie immer der volle Preis zu zahlen wäre. Somit bietet P4P im Fall schlecht wirksamer Therapien einen deutlichen ökonomischen Vorteil für die Zahlenden gegenüber einer Vereinbarung, bei der immer der volle Preis zu zahlen ist. Das entspricht in der Definition des nachhaltigen Rechts auf Gesundheit Aspekt (3): zur Garantie des Rechtes müssen ökonomische Faktoren berücksichtigt werden.¹⁴ Das Recht Einzelner auf eine bestimmte Therapie (1 in genannter Definition) wird zudem mit P4P eher gewahrt, als wenn sehr hohe Preise ohne Rückerstattungsmöglichkeit für die von Einzelnen benötigte neue Gentherapie festgesetzt werden. Das Recht aller auf Zugang zu anderen Gesundheitsleistungen, was Teil (2) der obigen Definition eines nachhaltigen Rechts auf Gesundheit entspricht, wird ebenfalls durch die finanziell weniger starke Belastung des Gesundheitssystems scheinbar gewahrt.

Wenn jedoch die Therapie meist die erwünschten Ergebnisse erzielt, wird zwar das Recht Einzelner auf Zugang zu bestmöglicher Therapie scheinbar gewahrt (das ist Teil 1 der Definition des nachhaltigen Rechts auf Gesundheit), da P4P zumindest eine gewisse finanzielle Entlastung für das Gesundheitssystem darstellt, nämlich in den Fällen, in denen die Therapie nicht wie gewünscht wirkt (3). Allerdings gilt: Je besser die Therapie „funktioniert“, desto geringer ist (bei sehr hohen Preisen wie für neue Gentherapien) die Entlastung. Zudem kann wie bei den herkömmlichen Festpreisen so auch mit einem P4P-Modell der vom Hersteller verlangte Preis so hoch sein, dass die Krankenkassen grundsätzlich nicht bereit sind, den Preis zu bezahlen. Dies zeigte sich, als der Hersteller Bluebird das Medikament Zynteglo®, das erfolgsabhängig bis zu 1,58 Mio. € hätte kosten sollen, vom Markt nahm (siehe De-

¹⁴Die im Folgenden in Klammern eingefügten Zahlen beziehen sich auf die oben gelisteten vier Bestandteile des nachhaltigen Rechts auf Gesundheit. Darunter sind, wie erklärt, nur (1) bis (3) für das nachhaltige Recht auf Gesundheitsversorgung relevant.

tails in Fn. 5 sowie in Abschn. 22.4.2). Somit hatten Einzelne (1), die Interesse an dieser Therapie hatten, in Deutschland keinen Zugang mehr zu Zytteglo®. Auch mit P4P besteht die finanzielle Belastung des Gesundheitssystems durch neue Gentherapeutika fort (3). Die finanziellen Auswirkungen auf das Gesundheitssystem werden von P4P-Modellen bei den hochpreisigen Medikamenten, bei denen das Modell aktuell zur Diskussion steht, nicht ausreichend berücksichtigt, insbesondere dann nicht, wenn die Therapien, für die P4P-Vereinbarungen zur Diskussion stehen oder geschlossen werden, meist die gewünschten Ergebnisse erzielen würden. Daher kann das Recht auf Gesundheit nicht nachhaltig garantiert werden. Denn durch eine zu starke finanzielle Belastung des Gesundheitssystems läuft dieses Gefahr, nicht nur Patient:innen, die teure Gentherapien benötigen (1), sondern auch anderen Patient:innen, die andere Gesundheitsleistungen in Anspruch nehmen möchten (2), nur noch ein immerhin etwas eingeschränktes Angebot machen zu können. Teure Gentherapien können somit, ob mit oder ohne P4P, zu Einschränkungen des Kreises von Patient:innen, mit seltenen Erkrankungen oder Krebserkrankungen führen, für die die neuesten Therapien auf dem Markt verfügbar und grundsätzlich erstattungsfähig sind, oder, sofern verfügbar und erstattungsfähig, für die die GKV einer Erstattung der Therapie zustimmt. Nicht nur wird die Indikationsstellung von den GKV akribisch geprüft, sondern es könnte sogar die grundsätzliche Gefahr bestehen, dass Patient:innen mit schlechteren Überlebenschancen bevorzugt für die Therapie ausgewählt werden, wenn Vereinbarungen getroffen werden, bei denen die Krankenkasse weniger zahlt, wenn Patient:innen sterben, wie es der Spiegel treffend formuliert hat (*Spiegel Online* 2019; vgl. auch König et al. 2020).¹⁵

P4P ist somit im Beispielfall zur Erstattung der CAR-T-Zelltherapie nicht mit einem nachhaltigen Recht auf Gesundheit vereinbar, was aus ethischer Sicht nahelegt, dass es keine zufriedenstellende Lösung zur Finanzierung teurer neuer Gentherapien darstellt. Gentherapien kosten, wie das Beispiel zeigt, auch mit P4P noch sehr viel, was mit dem Ideal eines nachhaltigen Rechts auf Gesundheit nicht vereinbar ist. Darüber hinaus stellen die hohen Preise ein Problem für Zugangsgerechtigkeit dar, wie nachfolgend gezeigt wird.

22.4.2 Kosten-Nutzen-Analysen vs. Zugangsgerechtigkeit und nachhaltiges Recht auf Gesundheit

Das nachhaltige Recht auf Gesundheit basiert auf dem Ideal der Zugangsgerechtigkeit. Zugangsgerechtigkeit verstehen wir im Zusammenhang mit Gesundheitsversorgung als gleichen Zugang aller zu den ihren individuellen Bedürfnissen entsprechenden Gesundheitsleistungen (vgl. Perelman 1967: 16). Für die Diskussion

¹⁵Wichtig zu bedenken ist, dass es die Ärzt:innen bzw. ein interdisziplinäres Tumorboard sind, die die Therapieentscheidung treffen, und nicht die GKV. Es muss jedoch auch bedacht werden, dass die Kostenzusage von der jeweiligen Krankenkasse vor der Verabreichung der Gentherapie beantragt wird und diese dann die Zusage zur Kostenübernahme erteilt oder nicht. Die Krankenkasse legt ihrer Entscheidung Informationen zu den Patient:innen zugrunde.

darüber, ob Zugangsgerechtigkeit zu neuen Gentherapien gegeben ist, stellt sich die Frage: Wer kann sich so teure Therapien leisten? Im Kontext des deutschen Gesundheitssystems ist, wie gezeigt (Abschn. 22.2), die GKV erstattungspflichtig. Daher muss sichergestellt werden, dass die von der EMA zugelassenen Arzneimittel von den GKV erstattet werden können. Ferner muss sichergestellt werden, dass die GKV oder in der Tat die jeweiligen Abteilungen in Krankenhäusern der Maximalversorgung, die die erforderlichen Infrastrukturen haben, um neue, teure Therapien anzubieten, durch hohe Zusatzkosten für neue Arzneimittel nicht gezwungen sind, ihr Angebot an oder ihre Erstattung von anderen Gesundheitsleistungen langfristig einzuschränken. Das zu betonen, ist wichtig. Denn Zugangsgerechtigkeit beinhaltet gleichen Zugang aller zu dem, was sie benötigen (Perelman, *ibid.*). Deshalb ist es unerlässlich, eine individuelle ethische Perspektive mit einer am Gemeinwohl orientierten Perspektive in Einklang zu bringen, wie es das Konzept eines nachhaltigen Rechts auf Gesundheit (Abschn. 22.4.1) vorsieht. Das bedeutet, dass aus ethischer Sicht sowohl die moralischen Rechte von Individuen, die bestimmte, sehr teure Therapien benötigen, berücksichtigt werden müssen als auch die Gesellschaft als Ganze bzw., im Fall der Diskussion um Gentherapien in Deutschland, das Recht auf Gesundheit der Gesamtheit der GKV-Versicherten. Um beide Perspektiven (Rechte Einzelner, Rechte aller) zu vereinen, muss Hochpreisigkeit von Gentherapien vermieden werden. Wir verstehen darunter zumindest Preise, die die GKV (oder, wenn diese die Kosten nicht übernehmen, die Selbstzahler:innen oder Krankenhäuser) finanziell so stark belasten, dass die Stabilität des Gesundheitssystems bedroht ist. Denn nur durch Vermeidung von Hochpreisigkeit in diesem Sinn kann zweierlei sichergestellt werden: 1. dass die Entscheidung im Einzelfall nicht aus ökonomischen Gründen gegen Verabreichung oder sogar gegen Markteinführung eines bestimmten Gentherapeutikums fällt, um das öffentlich finanzierte Gesundheitssystem nicht zu stark durch hohe Kosten zu belasten; und 2. dass immer dann, wenn Einzelne eine sehr teure Therapie erhalten, die finanzielle Belastung des Gesundheitssystems nicht dazu führt, dass andere GKV-Versicherte darunter leiden. Wichtig ist vor allem, dass eine Entscheidung gegen die Erstattung teurer Gentherapien, wie im Fall von Zytenglo®, zwar dem Gemeinwohl nützen kann (da sie die öffentlichen Gesundheitskassen finanziell schont), dabei aber dem:r/den Einzelnen bzw. Gruppen von Patient:innen schadet, denen ein teures Medikament so verwehrt wird, vorausgesetzt, mit dem Medikament ist ein Zusatznutzen verbunden.

Um die Preise von Gentherapien zu regulieren, wurde (wie gezeigt, siehe Abschn. 22.3) versucht, P4P zu nutzen. P4P ist jedoch mit einem nachhaltigen Recht auf Gesundheit nicht immer vereinbar (siehe Abschn. 22.4.1). Zudem wird in Deutschland das Verfahren der sog. frühen Nutzenbewertung durch den G-BA durchgeführt, das Grundlage der Preisverhandlungen über neue Gentherapien ist (siehe Abschn. 22.2). Dieses Verfahren stellt nach Julian Witte und Wolfgang Greiner eine Alternative „zum international verbreiteten Ansatz, auf Basis von Kosten-Effektivitäts-Schwellenwerten Höchstbeträge zu ermitteln, dar“ (Witte und Greiner 2021: 5). Erstattungsbeträge werden in Deutschland, anders als im internationalen Vergleich, demzufolge *nicht* auf Basis von Schwellenwerten ermittelt, die maximal für einen bestimmten erwarteten Gewinn an Lebensqualität und

Lebenszeit gezahlt werden (Silbert und Shuman 2019). Somit bilden „Schwellenwert[e], d[ie] aussag[en], was die Gesellschaft für ein gewonnenes QALY zu zahlen bereit ist“ (Wasem et al. 2021: 25), in Deutschland keine Bemessungsgrundlage. Eine rein auf QALYs (qualitätsadjustierte Lebensjahre) basierende Be- preisung ist, wie Kluger et al. (2020) vermuten, in Deutschland ggf. generell verfassungswidrig. Während wir die rechtliche Dimension nicht beurteilen können und auch auf die ethische Evaluierung konkret von QALYs erst unten (Abschn. 22.4.3) knapp eingehen, zeigen wir nun auf, welche Probleme mit der Nutzenbewertung des G-BA verbunden sind.

Auch ohne Schwellenwerte für QALYs ist bei einer ökonomischen Kosten- Nutzen-Rechnung – darunter verstehen wir ein Modell, in dem Preise sich daran orientieren, wie hoch der Zusatznutzen ist (Porter 2010), – zur Festlegung eines Preises von Gentherapeutika Vorsicht geboten, und zwar gerade, da jede Preis- bildung, die sich am Therapieergebnis orientiert, bei sehr guten Therapieergeb- nissen zu sehr hohen Preisen führen wird. Dies trifft sowohl auf Preisbildungs- modelle zu, die „nur“ den Zusatznutzen der Therapie und die Kosten der Vergleichs- therapie (mit geringerem/höherem Zusatznutzen) zugrunde legen, wie es ganz grundsätzlich im in Deutschland angewendeten Verfahren (siehe Abschn. 22.2) ge- schieht, als auch auf Preisbildungsmodelle, die zusätzlich zu den (oder vor den, wie im Fall von Kymriah®) Ergebnissen des G-BA-Bewertungsprozesses auf einer am Ergebnis orientierten Erstattung beruhen (siehe Abschn. 22.3). In beiden Fällen ist bei sehr gutem erwartbaren und ggf. (bei P4P zusätzlich) tatsächlichem Therapie- ergebnis der Preis genau dann sehr hoch, wenn Vergleichstherapien ebenfalls bereits sehr teuer sind.

Im Grunde führt dieses Modell, wie es aktuell in Deutschland etabliert ist, ver- mutlich dazu, dass ATMPs, darunter sehr viele Gentherapien, sowie auch andere neu entwickelte Therapien, immer teurer werden. Das scheint im Preisbildungs- prozess des G-BA angelegt.¹⁶ Zwar ist erwartbar, dass die hohen Preise mit der Zeit angepasst werden könnten, da das Patent ausläuft (Abschn. 22.2) oder wenn eine ausreichende Zahl an Gentherapeutika verkauft wurde, um die teuren Herstellungskosten zu kompensieren, zu bedenken ist aber auch, dass immer mehr (teure) Gentherapeutika eine Marktzulassung erhalten (van Overbeeke et al. 2021). Während ein einzelnes teures Gentherapeutikum, das als „orphan drug“ nur für sehr wenige Pa- tient:innen entwickelt wurde, „die Nachhaltigkeit der Gesundheits-Budgets vermut- lich nicht gefährdet, könnten Nachhaltigkeitsprobleme bedeutsamer werden, sobald Gentherapeutika für weit verbreitete Erkrankungen eine Marktzulassung erhalten“ (van Overbeeke et al. 2021; Übersetzung K. A.). Das nachhaltige Recht auf Gesund- heit ist somit auch in Preisbildungsmodellen gefährdet, die keine QALY-Schwellen- werte und kein P4P verwenden. Das Problem ist die Kosten-Nutzen-Bewertung an sich, wenn diese dazu führt, dass immer höhere Preise generiert werden.

Es ist aus Gründen der Zugangsgerechtigkeit sehr wichtig, dass es nicht zu Fäl- len kommt, in denen neue Therapien mit Zusatznutzen nicht erstattet werden. Zu solchen Fällen könnte es kommen, wenn das Verhältnis des medizinischen Nutzens

¹⁶Vgl. auch Howard et al. (2015) zu Preissteigerungen von Krebsmedikamenten in den USA.

(Zusatznutzen, der in der frühen Nutzenbewertung festgestellt wurde) zu dem verlangten Preis des Herstellers aus Sicht der GKV nicht gerechtfertigt ist, da das Budget der GKV begrenzt ist. Die Tendenz scheint gegenwärtig eher dahin zu gehen, die finanzielle Stabilität des Gesundheitssystems langfristig dadurch zu garantieren, dass der Zugang zu sehr teuren Therapien für eine kleine Gruppe von Patient:innen (z. B. Patient:innen mit seltenen genetischen Erkrankungen) eingeschränkt wird, nicht aber Leistungen der medizinischen Grundversorgung eingeschränkt werden. Dies ist eine Möglichkeit, Zugangsgerechtigkeit zu vielen Therapien (außer z. B. zu teuren Gentherapien) zu gewährleisten. Die erwähnte Tendenz illustriert z. B. der Fall von Zytenglo® (angenommen Zytenglo® hat Zusatznutzen), das, wie gezeigt (siehe Fn. 5), in Deutschland nun grundsätzlich nicht mehr angeboten wird. Durch dieses Vorgehen entfernt man sich jedoch erheblich von der ethisch gebotenen Zugangsgerechtigkeit für alle. Denn Patient:innen, die von Zytenglo® profitiert hätten, haben keinen (bzw. nur eingeschränkten) Zugang. Diese stellen sich nun in der Tat die Frage: Wer kann sich so teure Therapien leisten, wenn die GKV sie nicht erstatten? Natürlich stellen die GKV sich diese Frage ebenfalls: Wie können wir, als GKV, uns so teure Therapien leisten?

Der Prozess der frühen Nutzenbewertung von Arzneimitteln als alleinige Grundlage von Preisverhandlungen ist insofern nicht optimal, sollte er dazu führen, dass Therapien immer teurer werden oder dass keine Einigung auf einen Preis erfolgt und hochspezialisierte Therapien nicht angeboten werden.

In der Tat ist es wichtig, dass sich der Preis am Nutzen orientiert. Ein Menschenleben ist jedoch unbezahlbar. Sollte daher der Preis für ein Medikament, das ein Menschenleben retten kann, ebenfalls unbezahlbar sein? Nein. Die Kosten des Therapeutikums dürfen nicht an dieser Unbezahlbarkeit (im übertragenen Sinn) des Menschenlebens festgemacht werden. Der Wert des menschlichen Lebens erfordert gerade seine Unveräußerlichkeit. Eine für einen Kostenträger unbezahlbare für einen Menschen lebensrettende Therapie hat gerade dann keinen Preis, der ihrem Nutzen entspricht, wenn die Therapie unbezahlbar ist, sondern in diesem Fall hat die Therapie einen Preis, der ihrem Nutzen *widerspricht*. Grundsätzlich ist nur der Preis angemessen, der auch bezahlbar ist. Das gilt für medizinisch erforderliche Behandlungen immer. Man könnte aber sogar, vorsichtig formuliert, sagen: Für (potenziell) lebensrettende Therapien gilt in besonderem Maß, dass ihr Preis ihrem Nutzen nur dann entspricht, wenn er gerade nicht zu hoch ist. Aus ethischer Sicht ergibt sich daraus einerseits die Forderung an pharmazeutische Unternehmen, selbst nachhaltig (verstanden als gleichermaßen orientiert an sozialen, ökonomischen und Umweltaspekten) zu wirtschaften. Diese Forderung muss in der Wirtschaftsethik weiter diskutiert werden. Unabhängig davon ist es wichtig, einen Weg zu finden, über den selbst bei nicht im klassischen Sinn nachhaltigen pharmazeutischen Unternehmen das nachhaltige Recht auf Gesundheit sichergestellt werden kann.

Dies streicht nochmals klar heraus, dass Gentherapien nicht so viel kosten dürfen. Im Folgenden werden wir erneut einen Blick auf P4P werfen – einem Versuch, zu verhindern, dass Gentherapien so viel kosten. Zwar haben wir oben bereits dargelegt, dass P4P keine ideale Lösung darstellt, Gentherapien zu finanzieren, da es

dem nachhaltigen Recht auf Gesundheit zuwiderläuft, es könnten aber noch gravierendere Probleme mit P4P verbunden sein, wie ein möglicher Verstoß gegen die Menschenwürde.

22.4.3 Sind performanceorientierte Preisregulierungsmodelle mit Menschenwürde vereinbar?

Das deutsche Gesundheitssystem ist so konzipiert, dass zugelassene Arzneimittel, die in ihm zur Anwendung kommen, vergütet werden müssen. Anders als Erstattungsmodelle mit Festpreisen für bestimmte Güter orientieren sich performanceorientierte Erstattungsmodelle an der Leistung (engl. „performance“), die durch das zu vergütende Gut erbracht wird. Im Falle der Diskussion der Vergütung der CAR-T-Zelltherapie durch das performanceorientierte Erstattungsmodell P4P war Leistung als Überleben der jeweiligen Patient:innen über einen gewissen Zeitraum definiert (*Finanz Nachrichten* 2019). Bei dem performanceorientierten Erstattungsmodell in Form der Rückerstattung (siehe Abschn. 22.2) wird prospektiv ein bestimmter Preis gezahlt und das Arzneimittel angewendet. Nach Anwendung erfolgt nach einem vorher definierten Zeitraum eine retrospektive Bewertung der Leistung des Arzneimittels anhand eines ebenfalls vordefinierten Parameters. Hat das Arzneimittel seine Leistung *nicht* erbracht, wird ein Teil des gezahlten Preises rückerstattet. Der Betrag, der für das Arzneimittel erstattet werden muss, setzt sich daher zusammen aus einem Preis X, der immer zu zahlen ist (also nicht rückerstattet wird) und einem Preis Y, der nur zu zahlen ist, wenn das Arzneimittel die vordefinierte Leistung erbracht hat (da im Falle der Nichtleistung rückerstattet wird). Erbringt es diese nicht, dann wird nur X gezahlt, Y wird zurückerstattet. Parameter für die Leistung ist hier das Überleben der Patient:innen über einen definierten Zeitraum.

Durch die Festsetzung des Preises X wird ein monetärer Betrag für den Überlebensversuch der Patient:innen, die dieses Arzneimittel erhalten sollen, bestimmt. Das tatsächliche Überleben der Patient:innen über einen definierten Zeitraum wird durch die zuzügliche Summe Y ebenfalls mit einem Betrag versehen. Damit wird ein monetärer Betrag für Zeitspannen individuellen menschlichen Lebens festgesetzt (König et al. 2020). Bei einer Erstattung nach einem Festpreismodell erfolgt dies nicht. In den herkömmlichen Erstattungsmodellen wird für jedes Arzneimittel ein Festpreis vereinbart, der mit jeder Gabe gezahlt werden muss. Die Kosten sind unabhängig von der Wirkung des Medikamentes. In einem Festpreismodell wird das Medikament nicht weiter verabreicht, wenn es sich als unwirksam erweist. Das vorgeschlagene performanceorientierte Erstattungsmodell zur Vergütung der CAR-T-Zelltherapie ist ein Novum im deutschen Gesundheitssystem und die Statthaftigkeit dieses Vorgehens ist zumindest zu überprüfen (König et al. 2020).

Menschliches Leben ist wesentlich durch seine Zeitlichkeit definiert, wobei Zeit nicht nur ein wesentlicher Aspekt des menschlichen Lebens ist, sondern auch zur Qualität des menschlichen Lebens gehört (Beauchamp und Childress 2019:

252–256). Durch die monetäre Bewertung eines definierten zeitlichen Abschnittes menschlichen Lebens wird daher auch die Lebensqualität monetär bewertet.¹⁷ Diese monetäre Bewertung entspricht zwar nicht dem Konzept der monetären QALY-Methode, die in Deutschland verfassungswidrig sein könnte (Kluger et al. 2020; siehe auch Abschn. 22.4.2), aber als *monetäre LY*-Methode („life years“) einem ähnlichen Verfahren. Lebensqualität wird hier mit Lebensjahren gleichgesetzt. Mit der Festsetzung eines monetären Betrages (Preis X) für den Überlebensversuch und eines Betrages für das Überleben (Summe aus X und Y) der einzelnen Patient:innen erfolgt somit eine monetäre Bewertung der Qualität menschlichen Lebens. Die Vereinbarkeit mit dem der Verfassung zugrunde liegenden Konzept der Menschenwürde (Art. 1 I 1 GG) ist daher auch aus ethischer Sicht und auch für P4P zu prüfen.

Erfolgt eine *normative* Bewertung der Lebensqualität anhand des vordefinierten Zeitraumes des Überlebens, wird nach Quante ein naturalistischer Standard von Lebensqualität angewendet, der weder mit einer intrinsischen noch mit einer absoluten Interpretation der Menschenwürde vereinbar ist (Quante 2014: 27–41). Mit einer Lebensqualitätsbewertung nach dem naturalistischen Standard beschreibt Quante eine Bewertung, die rein auf biologischen oder medizinischen Fakten beruht. Damit wird die Qualität des menschlichen Lebens allein auf der Grundlage eines externen Bewertungsmaßstabes festgemacht, der laut Quante nicht mit der Menschenwürde vereinbar ist (ibid.). Eine Lebensqualitätsbewertung kann nur dann mit der Menschenwürde vereinbar sein, wenn sie nach dem personalen oder dem intersubjektiv-rationalen Standard erfolgt, da beide Standards auf der personalen Autonomie beruhen, „die es verlangt und rechtfertigt, dass wir einander Respekt schulden; und genau dieser Respekt ist der zentrale Aspekt des absoluten Wertes des menschlichen Lebens, der in der ‚Menschenwürde‘ ihren Ausdruck findet“ (ibid.).

Da die zur *monetären* Bewertung herangezogene Leistung im Rahmen der performanceorientierten Erstattung für die CAR-T-Zelltherapie ein definierter Überlebenszeitraum ist, erfolgt die *monetäre* Bewertung nach einem naturalistischen Standard. Es ergibt sich die Frage, ob die monetäre Bewertung nach naturalistischem Standard von einer normativen Bewertung des Lebens wirklich zu trennen ist. Falls die Antwort „Nein“ lautet, bestehen ernsthafte Bedenken darüber, ob P4P mit Menschenwürde vereinbar ist. Grundsätzlich sollte dabei bedacht werden, dass monetäre Wertzuschreibungen nicht in einem normativ freien Raum agieren.

Darüber hinaus stellt sich im Rahmen der performanceorientierten Erstattung die Frage, was die Vergütung des Preises X rechtfertigt, wenn die Leistung des Arzneimittels getrennt, durch den Zusatz von Y, vergütet wird. Definiert sich der Wert eines Arzneimittels über die Leistung, die es für die Patient:innen erbringt, was der Fall ist, wenn nach Leistung erstattet werden soll, dann muss aus logischen Gründen erst geklärt werden, warum erstattet werden sollte, wenn keine Leistung

¹⁷Dies würde überdies auch gelten, wenn im P4P nicht nur „Überleben“ als Parameter verwendet wird, sondern z. B. eine Teilrückzahlung bei Krankheitsfortschritt innerhalb der ersten 12 Monate nach der CAR-T-Zelltherapie. Auch dann wäre letztlich die Zeitlichkeit wesentliches (und für die Rückzahlung entscheidendes) Kriterium der Lebensqualität.

erbracht wurde. Ein Arzneimittel, das die Patient:innen vor dem Tod bewahren soll, hat seine Leistung nicht erbracht, wenn die Patient:innen versterben.

Es liegen daher ernstzunehmende moralische Bedenken darüber vor, ob die performanceorientierte Erstattung in ihrer oben beschriebenen Form statthaft ist. Diese Bedenken müssen vor der Etablierung des Modells im deutschen Gesundheitssystem adressiert werden.

22.5 Fazit

Ergebnis unserer ethischen Analysen in Abschn. 22.4.1 und 22.4.2 ist, dass weder der gegenwärtige Prozess zur Preisgestaltung von ATMPs noch das ergebnis-/performanceorientierte Erstattungsmodell P4P (im Fall von Kymriah®/Yescarta®) mit einem nachhaltigen Recht auf Gesundheit und somit auch nicht mit Zugangsgerechtigkeit vereinbar sind. Zudem läuft die Zusatznutzenbewertung Gefahr, dazu beizutragen, dass Preise immer höher werden. Das belastet nicht nur das gesamte Gesundheitssystem, sondern bedroht auch das Recht Einzelner auf Zugang zu innovativen Gentherapien. Größere Transparenz bei der Preisgestaltung könnte ein erster Schritt sein, um den benannten Problemen entgegenzuwirken.

Ergebnis unserer ethischen Analyse in Abschn. 22.4.3 ist schließlich, dass weitere ernstzunehmende moralische Bedenken bzgl. der Statthaftigkeit von P4P vorliegen, die es zu prüfen gilt. So muss vor der Einführung des P4P-Modells in das deutsche Gesundheitssystem nicht nur geklärt werden, ob es den Grundsätzen von Nachhaltigkeit und Gerechtigkeit entgegenläuft, sondern auch, ob dieses Erstattungsmodell mit dem ethischen und verfassungsrechtlichen Konzept der Menschenwürde vereinbar ist.

Einführend haben wir dargestellt, wie die Preise von Gentherapeutika formal in Deutschland festgesetzt werden, da dies notwendiger praktischer Bezug unserer theoretischen, abstrakteren anschließenden Analysen war. Zwar schlagen wir in diesem Kapitel keine konkreten Modifizierungen dieses Prozesses vor, möchten aber Leser:innen mit Expertise im Preisbildungsprozess für Gentherapien in Deutschland darin bestärken, auf Grundlage unserer Analyse konkrete Handlungsempfehlungen zu entwickeln. Zudem begrüßen wir genauere Analysen der hier vorgestellten Argumente. So möchten wir unsere Kolleg:innen aus der Angewandten Ethik (Medizin- wie Wirtschaftsethiker:innen) ermuntern, das Preisregulierungsmodell P4P und die Rolle von Kosten-Nutzen-Bewertungen im Prozess der Preisbildung von Gentherapien und anderen ATMPs genauer zu analysieren. Dabei kann an unsere ethische Analyse (Abschn. 22.4) angeknüpft werden.

Danksagung Wir danken Prof. Dr. Dr. Eva C. Winkler (Heidelberg) für wertvolle Hinweise zu einer vorherigen Version dieses Textes sowie Hannah Schickl und Prof. Dr. Boris Fehse für die exzellente editorielle Begleitung und wichtigen Hinweise zu den zentralen Argumenten dieses Kapitels.

Literatur

- Alex K (2021) Ethical conceptualization of a sustainable right to health(care). In: Schildmann J et al (Hrsg) Defining the value of medical interventions. Normative and empirical challenges. Kohlhammer, Stuttgart, S 29–48. Unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/wt606037/ch03/>. Zugegriffen am 07.05.2023
- Beauchamp TL, Childress JF (2019) Principles of biomedical ethics, Achte. Aufl. Oxford University Press, New York/Oxford
- Bomhof CHC et al (2022) Physicians' perspectives on ethical issues regarding expansive anti-cancer treatments. A qualitative study. *AJOB Empir Bioeth* 13(4):275–286
- Buch C et al (2021) Risk-sharing schemes to finance expensive pharmaceuticals. Interdisciplinary analyses. In: Schildmann J et al (Hrsg) Defining the value of medical interventions. Normative and empirical challenges. Kohlhammer, Stuttgart, S 99–114. Unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/wt606037/ch07/>. Zugegriffen am 07.05.2023
- CESCR = Committee on Economic, Social and Cultural Rights (2000) General comment no. 14. The right to the highest attainable standard of health (art. 12), adopted at the twenty-second session of the committee on economic, social and cultural rights, on 11 August 2000 (contained in Document E/C.12/2000/4). Unter: <https://www.refworld.org/pdfid/4538838d0.pdf>. Zugegriffen am 24.10.2023
- Elkington J (1999) Cannibals with forks. The triple bottom line of 21st century business. Capstone, Oxford
- Finanz Nachrichten (2019) DGAP-News: Novartis Pharma GmbH und GWQ ServicePlus schließen Vertrag über ein innovatives Erstattungsmodell für die CAR-T-Zelltherapie (deutsch). 06.03.2019. Unter: <https://www.finanznachrichten.de/nachrichten-2019-03/46132853-dgap-news-novartis-pharma-gmbh-und-gwq-serviceplus-schliessen-vertrag-ueber-ein-innovatives-erstattungsmodell-fuer-die-car-t-zelltherapie-deutsch-016.htm>. Zugegriffen am 10.05.2023
- GG = Grundgesetz für die Bundesrepublik Deutschland (GG) vom 23.05.1949, in der im Bundesgesetzblatt Teil III, Gliederungsnummer 100-1, veröffentlichten bereinigten Fassung. Zuletzt geändert durch Art. 1 des Gesetzes vom 19.12.2022. In: BGBl (2022): 2478. Unter: <https://www.gesetze-im-internet.de/gg/BJNR000010949.html>. Zugegriffen am 08.05.2023
- Gonçalves E (2022) Value-based pricing for advanced therapy medicinal products: emerging affordability. *Eur J Health Econ* 23:155–163
- Howard DH et al (2015) Pricing in the market for anticancer drugs. National Bureau of Economic Research, Working paper 20867. Unter: https://www.nber.org/system/files/working_papers/w20867/w20867.pdf. Zugegriffen am 07.05.2023
- International covenant on economic, social and cultural rights (ICESCR). Resolution 2200A (XXI) of 16 December 1966, entry into force 3 January 1976, in accordance with article 27. United Nations. Unter: <https://www.ohchr.org/en/professionalinterest/pages/cescr.aspx>. Zugegriffen am 24.10.2023
- Jørgensen J et al (2020) Outcomes-based reimbursement for gene therapies in practice: the experience of recently launched CAR-T cell therapies in European countries. *J Mark Access Health Policy* 8(1):1715536
- Kluger S et al (2020) Is QALY-based rationing illegal in countries with a natural-law-constitution?. A multidisciplinary systematic review. *Ethics Med Public Health* 14:2352–5525
- Kochenderfer JN et al (2009) Construction and preclinical evaluation of an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Immunother* 32(7):689–702
- König J et al (2020) Am individuellen Therapieergebnis orientierte Erstattungsverfahren in der Onkologie: ethische Implikationen am Beispiel der CAR-T-Zelltherapie. *Ethik Med* 32:85–92
- Neelapu SS et al (2018) CAR T-cell therapy in large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 378(11):1065
- van Overbeke E et al (2021) Market access of gene therapies across Europe, USA, and Canada: challenges, trends, and solutions. *Drug Discov Today* 26(2):399–415

- Perelman C (1967) Über die Gerechtigkeit. Mit einer Einleitung von Theodor Viehweg. Übersetzt von Ulrike Blüm und Ottmar Ballweg. Beck'sche Schwarze Reihe. Band 45. C. H. Beck, München
- Porter ME (2010) What is value in health care? *N Engl J Med* 363(2):2477–2481
- Quante M (2014) Menschenwürde und personale Autonomie. Demokratische Werte im Kontext der Lebenswissenschaften. Meiner, Hamburg
- Reidpath DD et al (2015) Is the right to health compatible with sustainability? *J. Glob. Health* 5(1):1–4
- Ronco V et al (2021) Price and reimbursement of advanced therapeutic medicinal products in Europe: are assessment and appraisal diverging from expert recommendations? *J Pharm Policy and Pract* 14(30):1–11
- SGB V = Das Fünfte Buch Sozialgesetzbuch – Gesetzliche Krankenversicherung (SGB V) vom 20.12.1988. Zuletzt geändert durch Art. 1b des Gesetzes vom 20.12.2022. In: BGBl (2022): 2793. Unter: https://www.gesetze-im-internet.de/sgb_5/BJNR024820988.html. Zugegriffen am 07.05.2023
- Silbert GAY, Shuman AG (2019) How should we determine the value of CAR-T-Cell Therapy? *AMA J Ethics* 21(10):E844–E851
- Spiegel Online (2019) Wenn der Patient stirbt, zahlt die Krankenkasse weniger. 06.03.2019. Unter: <https://www.spiegel.de/gesundheit/diagnose/krebsmittel-kymriah-novartis-erstattet-geld-zurueck-wenn-patient-stirbt-a-1256506.html>. Zugegriffen am 07.05.2023
- Steiner S et al (2021) Hochpreisige Arzneimittel – Herausforderungen und Perspektiven aus Sicht der Vertragsärzteschaft. In: Schröder H et al (Hrsg) *Arzneimittel-Kompass 2021. Hochpreisige Arzneimittel – Herausforderungen und Perspektiven*. Springer, Berlin, S 191–208
- Wasem J et al (2021) Gesellschaftliche und volkswirtschaftliche Sicht auf die (zukünftige) Finanzierbarkeit von Arzneimitteln. In: Schröder H et al (Hrsg) *Arzneimittel-Kompass 2021. Hochpreisige Arzneimittel – Herausforderungen und Perspektiven*. Springer, Berlin, S 19–34
- WCED = World Commission on Environment and Development (1987) Report of the world commission on environment and development. Our common future. United Nations. Unter: <https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/5987our-common-future.pdf>. Zugegriffen am 23.10.2023
- Witte J, Greiner W (2021) Arzneimittelpreise aus gesellschaftlicher Perspektive. In: Schröder H et al (Hrsg) *Arzneimittel-Kompass 2021. Hochpreisige Arzneimittel – Herausforderungen und Perspektiven*. Springer, Berlin, S 3–17

Open Access Dieses Kapitel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>) veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Kapitel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

