

## STAMMZELLTHERAPIE

### **Transgene Stammzellen reparieren die Haut eines todkranken Jungen**

**Ein siebenjähriger Junge litt so schwer an der erblichen Hautkrankheit Epidermolysis bullosa, dass er schon über die Hälfte seiner Epidermis verloren hatte und sein Zustand lebensbedrohlich war. Mithilfe einer experimentellen Gentherapie gelang es Ärzten, seine gesamte Haut nahezu komplett zu ersetzen. Inzwischen ist der Junge vollständig geheilt und kann ein normales Leben führen.**

Epidermolysis bullosa (EB) ist eine genetisch bedingte Hautkrankheit, bei der die mechanische Verbindung zwischen der oberen Hautschicht, der Epidermis, und der darunterliegenden Hautschicht, der Dermis, unzureichend ausgebildet ist. Schon geringste mechanische Beanspruchungen der Haut führen zu Blasenbildung und zur Ablösung der Epidermis. Die Folgen sind chronisch offene Wunden, die die Lebensqualität der betroffenen Patienten drastisch einschränken. Zudem führt die Krankheit häufig zu Hautkrebs und zum frühzeitigen Tod der Betroffenen.

Die Ursache der EB sind Mutationen in bestimmten Genen, deren Genprodukte für die Verankerung der Epidermis mit der Dermis verantwortlich sind. Je nachdem, welche Gene betroffen sind, werden drei Hauptformen der Erbkrankheit unterschieden: *EB simplex (EBS)* verursacht durch Mutationen in den Genen für die Proteine Keratin 5 und Keratin 14 oder Plectin, *EB junctionalis (EBJ)* hervorgerufen durch Mutationen in den Genen für die Proteine Laminin  $\alpha 3$ , Laminin  $\beta 3$ , Laminin  $\gamma 2$ , Kollagen XVII, Integrin  $\alpha 6$  oder Integrin  $\beta 4$  und *EB dystrophica (EBD)* ausgelöst durch Mutationen im Gen für das Protein Kollagen VII. Es gibt keine heilende Therapie für die EB. 40% der Patienten sterben, bevor sie das Erwachsenenalter erreichen. Derzeit werden EB-Patienten symptomatisch behandelt, indem ihre Haut und Wunden mit Cremes und Medikamenten gepflegt und versorgt werden.

Die menschliche Oberhaut wird durch epidermale Stammzellen ständig erneuert, die ein äußerst hohes Vermehrungspotential haben. *In vitro*-Kulturen von Hautzellen produzieren u.a. Holoklone, die aus undifferenzierten, teilungsfähigen, stammzellenähnlichen Zellen bestehen. Mit Hilfe von Zellkulturen, die Holoklon-erzeugende Zellen enthalten, können schwere Hautdefekte dauerhaft geheilt werden. In zwei früheren Einzelpatientenstudien konnte gezeigt werden, dass transgene epidermale Zellkulturen in der Lage sind, in EBJ-Patienten Hautläsionen zu heilen und eine funktionsfähige Oberhaut permanent wiederzuherstellen [1, 2]. Allerdings wurden bislang nur kleinere Hautbereiche behandelt, so dass die Therapie die Lebensqualität der Patienten nicht wesentlich verbesserte. Jetzt haben Mediziner vom Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil der Ruhr-Universität Bochum in Zusammenarbeit mit dem Zentrum für Regenerative Medizin der Universität Modena (Italien) unter der Leitung von Tobias Hirsch einen siebenjährigen Jungen, der an einer besonders schweren Form der EBJ litt, mithilfe einer experimentellen Gentherapie heilen können [3]. Als der Jungen im Juni 2015 in die Bochumer Kinderklinik eingeliefert wurde, waren 60% seiner Oberhaut nicht mehr vorhanden. Seit seiner Geburt hatte der Junge Blasen am ganzen Körper, vornehmlich an seinen Gliedmaßen, am Rücken und an den Flanken. Aufgrund einer Infektion mit *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* verschlechterte sich sein Zustand dramatisch sechs Wochen vor der Einlieferung. Die Prognose des Jungen war so schlecht, dass nur noch eine palliativmedizinische Behandlung infrage kam. Auf Wunsch der Eltern und nach Genehmigung der verantwortlichen Behörden und der Ethikkommission der Bochumer Ruhr-Universität, führten die Ärzte eine kombinierte *ex vivo*-Zell- und Gentherapie bei dem Jungen durch.

Die Ursache für die EBJ des Jungen lag in einer Spleißstellenmutation innerhalb des Introns des *LAMB3*-Gens, das für das Laminin  $\beta 3$  codiert. Für die geplante Gentherapie entnahmen die Bochumer Ärzte eine 4 cm<sup>2</sup> große Hautbiopsie an einer blasenfreien Stelle und

schickten die Probe an die Experten in Modena, die daraus epidermale Stammzellen isolierten. Mithilfe eines retroviralen Vektors schleusten die italienischen Wissenschaftler das komplette *LAMB3*-Gen als cDNA in das Erbgut der Stammzellen ein. Anschließend wurden aus diesen genmodifizierten Stammzellen Oberhautstücke im Labor gezüchtet, die dem Jungen in drei Operationen zwischen Oktober 2015 und Januar 2016 transplantiert wurden. Insgesamt wurden 80% der Epidermis (0,85 m<sup>2</sup>) auf diese Weise bei dem Jungen ersetzt. Inzwischen hat die neue Epidermis mehr als 20 Erneuerungszyklen durchlaufen und ist mit der darunterliegenden Dermis fest verbunden. Die neue Oberhaut ist gegenüber mechanischer Belastung widerstandsfähig, bildet keine Blasen mehr und heilt nach Verletzung normal. Aktuell braucht der Patient keine Salben oder Medikamente zur Pflege seiner Haut.

Für Folgeuntersuchungen wurden dem Patienten nach 4, 8 und 21 Monaten zehn Stanzbiopsien entnommen. Mikroanatomische Untersuchungen der Hautproben bestätigten eine normale Morphologie der neuen Oberhaut und gaben keine Hinweise auf eine epidermale Ablösung. *In situ*-Hybridisierung mit einer vektorspezifischen *LAMB3*-Sonde zeigten, dass die regenerierte Epidermis ausschließlich aus transgenen Keratocyten besteht. Bei der Einlieferung war das Laminin  $\beta$ 3-Protein in der Haut des Jungen kaum nachweisbar. Dagegen exprimierte die transgene Epidermis nicht nur normale Mengen an Laminin  $\beta$ 3, sondern auch an Laminin  $\alpha$ 3, Laminin  $\gamma$ 2, Integrin  $\alpha$ 6 und Integrin  $\beta$ 4, die alle zuvor nur in deutlich reduzierter Menge vorhanden waren. Diese Daten bestätigten, dass die transgenen epidermalen Zellen bei dem Jungen eine fest verankerte und funktionsfähige Oberhaut erzeugten.

Bei einer Gentherapie besteht immer das Risiko, dass sich das eingeschleuste Gen an einer ungünstigen Stelle im Erbgut (z.B. Promotorregionen) integriert, wodurch es zur Auslösung von Krebserkrankungen kommen kann. Das Integrationsprofil des Patienten zeigte, dass der Großteil der Integrationen intronisch (47%) oder intergenetisch (38%) erfolgten; nur 10% bzw. 5% der Integrationen ereigneten sich in Promotoren bzw. Exonen. Bislang wurde bei dem Jungen die Bildung von Tumoren nicht beobachtet. Auch bei den zwei EBJ-Patienten, die vor dreieinhalb bzw. 12 Jahren mit der Gentherapie an kleineren Hautbereichen behandelt wurden, gibt es derartige Probleme bislang nicht [3].

Bei einer Gentherapie sollte auch immer eine Nutzen/Risiko-Abwägung erfolgen. In dem vorliegenden Fall überwiegt eindeutig der Nutzen. Erstens wurde die Lebensqualität des Jungen dramatisch verbessert. Er führt jetzt ein normales Leben, kann zur Schule gehen und mit Freunden Fußball spielen. Zweitens haben EBJ-Patienten ein stark erhöhtes Risiko an ein Plattenepithelkarzinom (Epithelioma spinocellulare) zu erkranken. Durch die Gentherapie ist dieses Risiko bei dem Jungen beträchtlich reduziert worden. Diese Nutzen wiegen das Risiko auf, an eine durch die Gentherapie hervorgerufene Karzinose zu erkranken.

[1] F. Mavilio et al., Nat. Med. **12**, 1397 (2006). – [2] L. De Rosa et al., Stem Cell Reports **2**, 1 (2013). – [3] T. Hirsch et al., Nature **551**, 327 (2017).

Priv.-Doz. Dr. Dietmar Steverding, Norwich, UK