

Petter Portin

Ihmisen geeniterapiassa avautuu uusia mahdollisuuksia

Geeniterapia jaetaan somaattiseen ja ituradan terapiaan. Ituradan terapia koskee sukusoluja tai niiden kantasoluja. Sen vaikutukset ovat siis periytyviä. Somaattisten solujen geeniterapian vaikutukset rajoittuvat yleensä potilaan yhteen kudokseen eivätkä koskaan periydy. Kaikki maailmassa tähän mennessä toteutetut geeniterapiatoimenpiteet ovat olleet somaattisen geeniterapian piiriin kuuluvia, ja ituradan terapia on ollut vain teoreettinen mahdollisuus. Aivan äskettäin on kuitenkin kehitetty menetelmä, joka soveltuu myös ituradan terapiassa käytettäväksi, ja koe-eläimillä saatuja positiivisia tuloksia on jo julkaistu. Lisäksi on raportoitu ensimmäisestä ihmisen ituradan soluilla tehdystä kokeesta. Ituradan terapiaan liittyy teknisten haasteiden lisäksi huomattavia eettisiä ongelmia, joihin tiedeyhteisön on nopeasti muodostettava kanta.

Ihmisellä on noin 3 000 yhden geenin virheestä aiheutuvaa perinnöllistä sairautta. Lisäksi tunnetaan lukuisia niin kutsuttuja monitekijäisiä sairauksia, joiden riskitekijöiden joukkoon kuuluu ympäristötekijöiden ohella monien eri geenien erilaisia geenimuotoja. Tällaisia ovat esimerkiksi diabetes, skitsofrenia, kaksisuuntainen mielialahäiriö ja sydän- ja verisuonisairaudet. Kaikki syövät puolestaan johtuvat aina geenivirheistä, joista kuitenkin vain hyvin pieni osa on saatu jo hedelmöityksessä, ja valtava enemmistö on syntynyt potilaan kehon soluissa hänen elämänsä aikana. Kaikkia edellä mainittuja tautteja voidaan periaatteessa hoitaa geeniterapialla; yhden geenin virheestä johtuvia luonnollisesti helpoimmin.

Geeniterapia eli sairauksia aiheuttavien geenivirheiden korjaaminen joko muokkaamalla geenin rakennetta, korvaamalla se virheettömällä geenillä tai sammuttamalla sen toiminta, jaetaan somaattiseen ja ituradan geeniterapiaan. Iturata (engl. germ line) on solulinja, joka johtaa edellisen sukupolven sukusoluista seuraavan sukupolven sukusoluihin. Selkäränsäällä eläimillä tämä solulinja erkanee anatomisesti muista soluista jo yksilönkehityksen

hyvin varhaisessa vaiheessa. Muut kehon solut ovat somaattisia soluja.

Ituradan geeniterapiassa on siis kysymys sukusolujen tai niiden kantasolujen perimän muokkauksesta. Näin ollen sen vaikutukset periytyvät seuraaville sukupolville. Hoidetuista sukusoluista syntyvien yksilöiden kaikki solut tulisivat olemaan muuntogeenisiä. Somaattisen geeniterapian vaikutukset sen sijaan kohdistuvat vain kyseessä olevaan potilasyksilöön ja yleensä vain yhteen kudokseen. Somaattisen terapian vaikutukset eivät myöskään koskaan periydy.

Kaikki maailmassa tähän mennessä tehdyt geeniterapiatoimenpiteet ovat olleet somaattisen geeniterapian piiriin kuuluvia, ja ituradan terapia on monestakin syystä ollut vain teoreettinen mahdollisuus. Nyt tilanne on kuitenkin muuttunut. On kehitetty menetelmä, joka soveltuu myös ituradan geeniterapiaan (1), ja ensimmäinen tätä koskeva koe ihmisen ituradan soluilla on jo tehty (2). Tässä kokeessa onnistuttiin korjaamaan osassa hyvin varhaisista ihmisalkioista geenivirhe, joka olisi johtanut beetatalassemiaan, kohtalokkaaseen verisairauteen. Kuitenkaan kaikki näin käsiteltyjen alkioiden solut eivät korjautuneet, vaan

alkiot olivat genotyypiltään mosaiikkisia (2). Mainittakoon, että kokeessa käytettiin kaksoishedelmöityksen kautta syntyneitä triploidisia alkioita, jotka eivät missään tapauksessa olisi olleet elinkykyisiä (2).

Ihmisen monikykyisissä kantasoluissa on tällä menetelmällä saatu aikaan spesifisiä perimän muutoksia, ja näistä soluista on voitu soluviljelmissä kasvattaa erilaisten kudosten soluja (3, 4). Lisäksi on onnistuttu aiheuttamaan sekä ihmisen että hiiren somaattisissa soluissa spesifisiä perimän muutoksia useissa kohdissa samanaikaisesti (5).

Katsaus somaattisen geeniterapian vaiheisiin

Ihmisen perinnöllisten tautien geeniterapian mahdollisuudesta kirjoittivat ensimmäisenä yhdysvaltalaiset Theodore Friedmann ja Richard Roblin 1972 (6). Geeniterapian teorian ja käytännön historiaa sekä tulevaisuuden näkymiä maailmalla on melko äskettäin tarkasteltu esimerkiksi Nature Biotechnology lehdessä vuonna 2011 (7).

Geeniterapian katsotaan käytännössä alkaneen 1980, kun yhdysvaltalainen lääkäri Martin Cline kollegoineen suoritti kiistanalaisen beetatalassemian geenihoidokokeen kahdella potilaalla. Hän siirsi näiden luuytimen verta muodostavan kudoksen soluihin DNA-molekyyliä, joissa oli normaali geeni. Hän kuitenkin toimi vastoin viranomaisten määräyksiä ja rikkoi useita eettisiä normeja, minkä johdosta hän joutui luopumaan laitoksensa johtajan virasta ja menetti useita apurahoja. Tästä seurasi se, että Yhdysvaltain viranomaiset täsmensivät geeniterapiaa koskevat sääntönsä, joten Cline tuli vaikuttaneeksi myös geenitekniikan etiikan kehitykseen (8).

Ensimmäiset onnistuneet kliiniset geeniterapiakokeet aloitettiin Yhdysvalloissa 1990. Ne koskivat ADA-entsyymin eli adenosini-deaminaasin puutoksesta johtuvaa perin-

nöllistä immuunikatoa, joka johtuu yhden somaattisen geenin virheestä. Silloin viisivuotiaan tytön immuunijärjestelmän T-solujen perimään onnistuttiin siirtämään normaali ADA-geeni. Geenihoidetut T-solut palautettiin tytön verenkiertoon, ja jotkut niistä vaelsivat luuytimen vertamuodostavaan kudokseen, missä ne alkoivat jakautua ja tuottaa ADA-entsyymiä. Potilaalla on nyt normaali ADA-entsyymin toiminta 25–30 %:ssa T-soluistaan, mikä on riittävä ylläpitämään terveyttä. Nyt tyttö elää 30-vuotiaan nuoren naisen normaalia elämää (7).

Tähän mennessä tehdyt kliiniset kokeet ovat osoittaneet, että geeniterapia on hoitomuotona tehokas erilaisten synnynnäisten monogeenisten sairauksien ja tiettyjen syöpien hoidossa. Sydän- ja verisuonisairauksien parantamisessa on otettu ensimmäiset edistysaskeleet. Myös verta muodostavan kudoksen sairauksien geenihoidossa on edistytty (9). Silti voidaan sanoa, että geeniterapia on vasta kehityksensä alkuvaiheessa ja sen on voitettava monia vaikeuksia ennen kuin se voi vakiinnuttaa asemansa.

Alan vaikeuksista useimmat ovat liittyneet vektoreihin eli kuljettimiin. Ne ovat yleensä



erilaisia partikkeleita, joiden sisään hoitogeeni voidaan pakata ja sitten viedä kohdesolun sisään, mutta DNA:ta voidaan siirtää solun sisään myös plasmidina. Yleisimmin käytettyjä kuljettimia ovat erilaiset virukset, jotka on tehty harmittomiksi, mutta myös esimerkiksi liposomeja voidaan käyttää vektoreina.

Ensimmäisen polven virusvektoreihin liittyy vakavia haittoja. Ensinnäkin retrovirusvektorit toimivat vain sellaisissa soluissa, joissa parhaillaan tapahtuu DNA:n kahdentumista. Tällaisia soluja on kehon erilaistuneissa kudoksissa vain vähän. Toiseksi useimmat näistä virusvektoreista mahdollisesti aiheuttavat haitallisen immuunivasteen potilaissa (10). Kolmanneksi virusgenomin integroituminen isäntäsolun genomien osaksi saattaa inaktivoida jonkin välttämättömän geenin tai aiheuttaa siinä virheen (9).

Tällaisiin haittoihin liittyneet kuolemantapaukset aiheuttivat aikanaan tiedeyhteisössä laajaa epäluottamusta geeniterapiaa kohtaan. Toisaalta tämä johti uusien virusvektoreiden ja hoitomuotojen kehitykseen.

TAULUKKO. Maailmassa vuoden 2015 tammikuuhun mennessä hyväksytyjen, käynnissä olevien tai loppuun saatettujen ihmistä koskevien kliinisten geeniterapiakokeiden jakautuma käyttöaiheen mukaan (13).

Käyttöaihe	Lukumäärä	Osuus (%)
Syöpäsairaudet	1 376	64,2
Monogeeniset sairaudet	196	9,2
Infektiosairaudet	172	8,0
Sydän- ja verisuonisairaudet	168	7,8
Neurologiset sairaudet	39	1,8
Silmäsairaudet	33	1,5
Tulehdussairaudet	14	0,7
Terveet vapaaehtoiset	53	2,5
Geenimerkintäkokeet	50	2,3
Muut	41	1,9
YHTEENSÄ	2 142	100,0

Uusista vektoreista eniten toiveita herättäviä ovat adenoviruksen kaltaiset virukset. Ne kykenevät tunkeutumaan sellaisiinkin soluihin, joissa ei parhaillaan tapahdu DNA:n kahdentumista. Ne eivät myöskään integroidu isäntäsolun genomiin eivätkä aiheuta immuunivastetta (9, 11). Muut vaikeudet ovat koskeneet hoitogeenin ohjausta oikeaan kudokseen ja oikeaan kohtaan kromosomistossa sekä sitä, miten saada hoitogeeni toimimaan halutulla teholla (10, 12).

Nykyään maailmassa on meneillään tai saatettu loppuun kaiken kaikkiaan noin 2 142 erilaista hyväksyttyä somaattisen geeniterapian piiriin kuuluvaa koetta, jotka on aiheensa perusteella ryhmitelty **TAULUKOSSA** (13). Valtaenemmistö (64,2 %) niistä koskee erilaisia syöpäsairauksia. Seuraavaksi eniten (9,2 %) on periytyviä monogeenisiä eli yhden geenin virheestä aiheutuvia sairauksia, infektiosairauksia (8,0 %) ja sydänverisuonisairauksia.

Kliiniset ihmisellä tehtävät geeniterapiakokeet ryhmitellään muiden lääkekokeiden tapaan edistymisensä mukaan neljään vaiheeseen: I, II, III ja IV. Niitä edeltävät prekliiniset kokeet laboratoriossa ja koe-eläimillä.

Ensimmäisessä (I) vaiheessa menetelmää sovelletaan ensimmäisen kerran ihmisiin pienellä potilasaineistolla tarkan valvonnan alaisena. Vaiheen tarkoituksena on ennen kaikkea varmistua menetelmän turvallisuudesta. Toisessa (II) vaiheessa käytetään jo suurempaa potilasmäärää ja pyritään saamaan selville potilaiden vaste menetelmälle. Kolmannessa (III) vaiheessa tutkitaan menetelmän tehoa ja pyritään saamaan sille myyntilupa. Neljännessä (IV) vaiheessa menetelmä on jo markkinoilla ja rutiinikäytössä, kuitenkin luonnollisesti edelleen valvonnan alaisena.

Kaikista maailmalla menossa olevista noin 2 142 kliinisestä geeniterapiakokeesta valtaenemmistö (78,5 %) on edelleen vaiheessa I tai I/II, ja vasta vain kaksi geenihoidomenetelmää on markkinoilla (13).

Näistä ensimmäinen oli Kiinassa kehitetty Gendicine-niminen geeniterapiamenetelmä, joka on suunniteltu kohdistumaan p53-kasvunrajoitegeenin virheestä johtuviin kasvaimiin. Menetelmä hyväksyttiin Kiinassa

Ydinasiat

- ▶ Geeniterapia jaetaan somaattiseen ja ituradan terapiaan. Tähän asti vain somaattinen geeniterapia on ollut teknisesti mahdollista.
- ▶ Viime vuosina on kuitenkin kehitetty menetelmä, joka mahdollistaa myös ituradan terapian ja samalla tekee somaattisesta terapiasta helpompaa ja täsmällisempää.
- ▶ Menetelmään liittyy vielä teknisiä haasteita, eivätkä ituradan terapian eettiset ongelmat ole kadonneet mihinkään.

systeemiin lisätään synteettinen opas-RNA-molekyylä (guide RNA), joka on rakennettu vastaamaan sen geenin DNA-sekvenssiä, joka on tarkoitus korjata. Opas-RNA siis vastaa bakteerin "spacer-DNA:ta", ja sen avulla systeemi pystyy kuljettamaan entsyymien haluttuun kohtaan tumallisen organismin genomia, minkä jälkeen kyseistä genomia kohtaa voidaan muokata halutulla tavalla (KUVA) (3).

Menetelmä on hyvin täsmällinen ja tarkka. CRISPR-segmentti yhdessä Cas9-proteiinin kanssa viedään plasmidivektorin avulla solun sisään, minkä jälkeen se hakeutuu edellä kuvatulla tavalla haluttuun kohtaan genomia. Toisin sanoen menetelmän avulla voidaan geeniterapia kohdistaa juuri täsmälleen haluttuun perimän kohtaan. Lisäksi menetelmä on tehokas ja erittäin halpa: yhden laboratorio-toimenpiteen kulut ovat vain noin 27 € (18).

CRISPR-menetelmässä siis viallinen geeni korjataan, mitä kutsutaan geenin muokkaukseksi tai editoinniksi. Aikaisemmat menetelmät sen sijaan ovat perustuneet geenin siirtoon: potilaan sairaaseen kudokseen on viety usein toisesta yksilöstä peräisin oleva hoitogeeni, joka korvaa sairautta aiheuttavan geenin, tai sitten virheellisen geenin toiminta on sammutettu. Näin on tehty syöpien hoidossa. Toisaalta jo ennen CRISPR-menetelmää on ollut käytettävissä muita geenin editointime-

netelmiä, mutta ne eivät ole soveltuneet ituradan terapiaan. Lisäksi ne ovat yli 100 kertaa kalliimpia toteuttaa kuin CRISPR (18). Näitä ovat niin ikään bakteereista löydettyjen sinkkisormiendonukleasien käyttöön nojautuva menetelmä ja TALEN-nimisten (transcription activator-like effector) synteettisten endonukleasien käyttöön perustuvat menetelmät.

Täsmällisyytensä ja tarkkuutensa ansiosta CRISPR-menetelmä parantaa huomattavasti myös somaattisen geeniterapian mahdollisuuksia. Näitä rajoitti ensimmäisen polven menetelmien aikana esimerkiksi se, että hoitogeeniä oli vaikea viedä täsmälleen haluttuun kohtaan kohdesolun kromosomistossa. CRISPR-menetelmällä ja muilla paikkaspesifisillä geenin editointimenetelmillä tämä vaikeus voidaan voittaa.

Niinpä täysikasvuisten hiirien maksasoluissa onnistuttiin CRISPR-Cas9-menetelmällä korjaamaan geenivirhe, joka aiheutti eläimille ihmisen perinnöllistä tyrosinemiaa matkivan sairauden (19). On myös onnistuttu tekemään hiiren maksassa in vivo geenin muokkaus, joka lisäsi LDL-reseptorien määrää ja vastaavasti pienensi veren kolesterolipitoisuutta (20). Vastaavalla tavalla on myös onnistuttu vähentämään seerumin kolesterolipitoisuutta sekä sitä säätelevän PCSK9-entsyymien pitoisuutta hiirillä (21).

Ituradan geeniterapiaan liittyvät ongelmat

Ituradan geeniterapiaan on liittynyt huomattavia teknisiä ongelmia ja eettisiä kysymyksiä. Sen on muun muassa ajateltu olevan puuttumista tulevien sukupolvien oikeuksiin – se on vastoin itsemääräämisoikeutta, koska sen kohteena olevien, vielä syntymättömien yksilöiden mielipidettä ei voida kysyä (22). Sen on myös koettu olevan eugeniikkaa, rodunjalostusta, josta ihmiskunnalla on vain kammottavia kokemuksia.

CRISPR-menetelmään liittyy ainakin toistaiseksi joitakin teknisiä ongelmia, joita ovat esimerkiksi mahdollisuus, että geeniterapiaa harjoitettaessa "osuttaisiin ohi maalin" eli korjattaisiin jokin muu kuin aiottu geeni tai

aiheutettaisiin muita tarkoittamattomia muutoksia perimässä (23).

Eettisten syiden vuoksi ituradan geeniterapia on kiellettyä kaikkiaan 45 maassa, muun muassa 15:ssä EU:n jäsenmaassa – Suomi mukaan luettuna. Enemmistö maailman maista sen sijaan sallii sen. Näiden joukossa on myös Kiina ja monet Yhdysvaltain osavaltiot, joissa tarvittava tietotaito on olemassa.

Kun ituradan geeniterapiasta nyt on tullut todellinen mahdollisuus, on syntynyt keskustelua siitä, miten ituradan geeniterapiaan olisi suhtauduttava (24). Alan johtavat yhdysvaltalaiset tiedemiehet kutsuivat tammikuussa 2015 koolle kokouksen Napaan Kaliforniaan keskustelemaan aiheesta (23).

Kokous antoi useita suosituksia lähiaikoina toteutettavista toimenpiteistä. Ensinnäkin ituradan geeniterapian kliinisistä sovelluksista tulisi pidättäytyä siksi aikaa, kunnes pulmakysymyksistä on käyty riittävä keskustelu. Toiseksi tulisi luoda foorumi, jolla alan tutkijat ja bioetiikan edustajat voisivat tarjota tietoa ja valistusta käsillä olevasta ihmisen biologian uudesta aikakaudesta. Kolmanneksi rohkaistaan alan perustutkimusta, jonka tarkoituksena on arvioida CRISPR-menetelmän tehoa ja spesifisyyttä. Neljänneksi kutsutaan koolle kansainvälinen ryhmä pohtimaan edellä esitettyjä kysymyksiä. Ryhmään tulisi kuulua alan tutkijoiden lisäksi bioetiikan tuntijoita, juristeja ja hallitusten edustajia, ja keskustelun tulisi olla mahdollisimman avointa ja läpinäkyvää (23).

Huolta koetaan esimerkiksi siitä, että ituradan geeniterapiaa voitaisiin käyttää muuhun tarkoitukseen kuin sairauksien ehkäisemiseen (24). Tällainen ihmisen ominaisuuksien vah-

vistaminen tai parantelu voisi johtaa yhteiskunnallisesti epätoivottaviin seurauksiin, minä vuoksi se halutaan kieltää pysyvästi (22). Toisaalta säännöt eivät saisi haitata CRISPR-menetelmän käyttöä somaattisessa geeniterapiassa. Myös kansalaisten valistamiseen halutaan kiinnittää huomiota: kaikille on syytä tehdä selväksi ero somaattisen ja ituradan geeniterapian välillä.

Alan nykyistä keskustelua leimaa jonkinlainen biologismi. Biologista vanhemmuutta pidetään tarpeettomasti arvossa eikä haluta huomata, että ituradan geeniterapialle on jo olemassa vaihtoehtoja, kuten esimerkiksi keinohedelmöitys luovutetuilla sukusoluilla.

Lopuksi

Geeniterapiaa koskevan kansainvälisen sääntelyn foorumiksi on ehdotettu Unescon kansainvälistä bioetiikan komissiota ja sen lähtökohdaksi YK:n yleismaailmallista bioetiikan ja ihmisoikeuksien julistusta (25). Suomessakin olisi pohdittava, miten Napan kokouksen suositukset otetaan meillä huomioon ja millaista linjaa edustamme EU:ssa ja maailmanlaajuisesti mahdollisesti alkavassa keskustelussa. ■

* * *

Parhaimmat kiitokset professori Marja-Liisa Savontaukselle ja dosentti Mikko Savontaukselle käsikirjoituksen parannusehdotuksista.

PETTER PORTIN, FT, perinnöllisyystieteen emeritusprofessori
Turun yliopisto

SIDONNAISUUDET
Ei sidonnaisuuksia

SUMMARY

New possibilities will open up in human gene therapy

Gene therapy is divided into somatic and germ line therapy. The latter involves reproductive cells or their stem cells, and its results are heritable. The effects of somatic gene therapy are generally restricted to a single tissue of the patient in question. Until now, all gene therapies in the world have belonged to the regime of somatic therapy, germ line therapy having been a theoretical possibility only. Very recently, however, a method has been developed which is applicable to germ line therapy as well. In addition to technical challenges, severe ethical problems are associated with germ line therapy, demanding opinion statement.

KIRJALLISUUTTA

1. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012;337:816–21.
2. Liang P, Xu Y, Zhang X, ym. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human trippronuclear zygotes. *Protein Cell* 2015;6:363–72.
3. Mali P, Yang L, Esvelt KM, ym. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 2013;339:823–6.
4. Zhu Z, González F, Huangfu D. The iCRISPR platform for rapid genome editing in human pluripotent stem cells. *Methods Enzymol* 2014;546:215–50.
5. Cong L, Ran FA, Cox D, ym. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013;339:819–23.
6. Friedmann T, Roblin R. Gene therapy for human genetic disease? *Science* 1972;175:949–55.
7. Sheridan C. Gene therapy finds its niche. *Nat Biotechnol* 2011;29:121–8.
8. Fletcher JC. Evolution of ethical debate about human gene therapy. *Hum Gene Ther* 1990;1:55–68.
9. Ginn SL, Alexander IE, Edelstein ML, Abedi MR, Wixon J. Gene therapy clinical trials worldwide to 2012 – an update. *J Gene Med* 2013;15:65–77.
10. Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* 2003;4:346–58.
11. Lieber A. AAV display – homing in on the target. *Nat Biotechnol* 2003;21:1011–3.
12. Li S, Huang L. Nonviral gene therapy: promises and challenges. *Gene Ther* 2000;7:31–4.
13. Gene therapy clinical trials worldwide [verkkosivu]. www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/.
14. Pearson S, Jia H, Kandachi K. China approves first gene therapy. *Nat Biotechnol* 2004;22:3–4.
15. Richards S. Gene therapy arrives in Europe. *The Scientist* 6.11.2012.
16. Ylä-Herttua S. Geeniterapialääkkeet tekevät tuloaan. *Duodecim* 2013;129:788–9.
17. Sander JD, Joung JK. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat Biotechnol* 2014;32:347–55.
18. Ledford H. CRISPR, the disruptor. *Nature* 2015;522:20–4.
19. Yin H, Xue W, Chen S, ym. Genome editing with Cas9 in adult mice corrects a disease mutation and phenotype. *Nat Biotechnol* 2014;32:551–3.
20. Ding Q, Strong A, Patel KM, ym. Permanent alteration of PCSK9 with in vivo CRISPR-Cas9 genome editing. *Circ Res* 2014;115:488–92.
21. Ran FA, Cong L, Yan WX, ym. In vivo genome editing using *Staphylococcus aureus* Cas9. *Nature* 2015;520:186–91.
22. Lanphier E, Urnov F, Haecker SE, Werner M, Smolenski J. Don't edit the human germ line. *Nature* 2015;519:410–1.
23. Baltimore D, Berg P, Botchan M, ym. Biotechnology. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science* 2015;348:36–8.
24. Germline editing: time for discussion. *Nat Med* 2015;21:295.
25. Bosley KS, Botchan M, Bredenoord AL, ym. CRISPR germline engineering – the community speaks. *Nat Biotechnol* 2015;33:478–86.