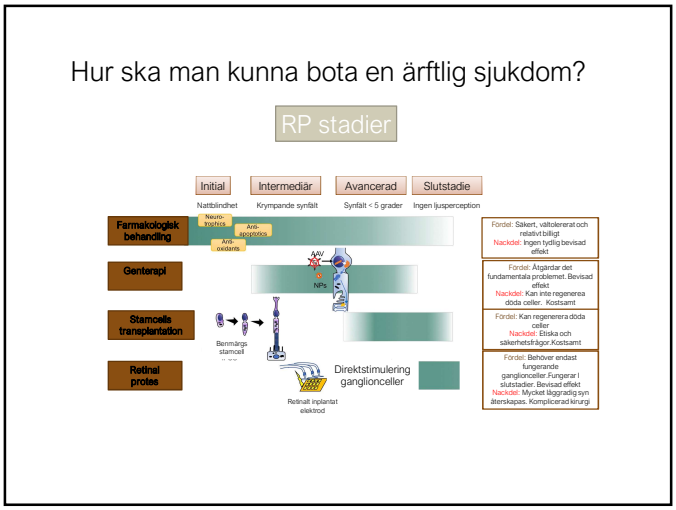

LUNDS UNIVERSITET
Genterapi
MRK höstmöte 2018
REGION SKÅNE
STEN KJELLSTRÖM
SKÅNES UNIVERSITETSSJUKHUS

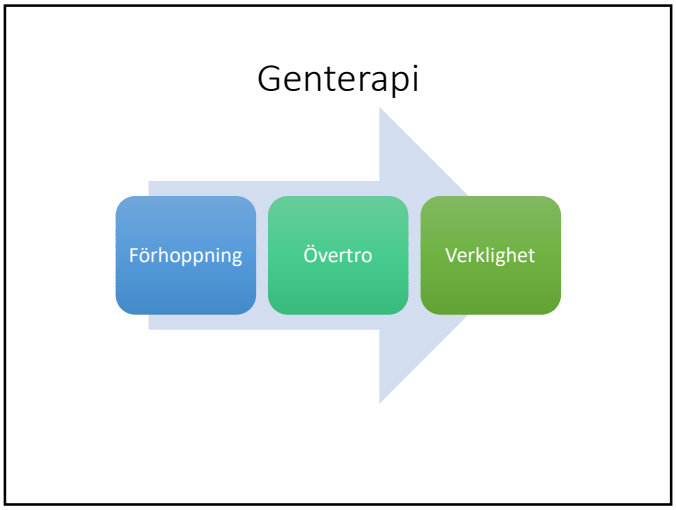
1


Hur ska man kunna bota en ärftlig sjukdom?
RP stadier
Initial
Intermediär
Avancerad
Slutstadie
Nattblindhet
Krympande synfält
Synfält < 5 grader
Ingen ljusperception
Farmakologisk behandling
Genterapi
Stamcells transplantation
Retinal protes
Direktstimulering ganglionceller

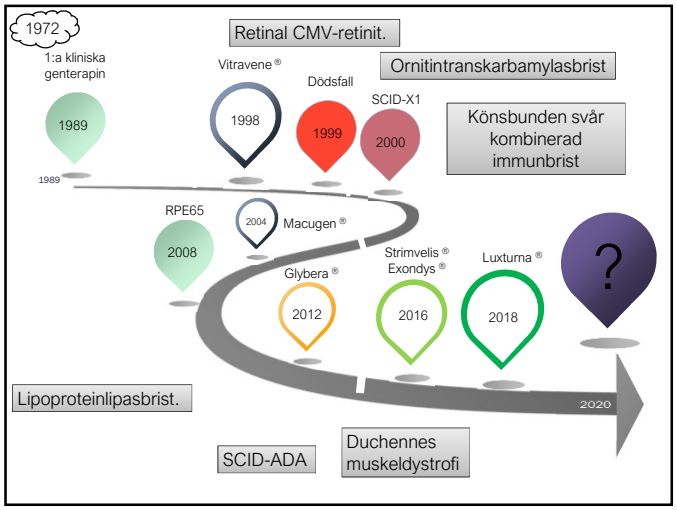
2


Doktor Google säger
Genterapi är en behandlingsform av vissa sjukdomstillstånd som går ut på att införa en eller fler nya gener till cellerna i en organism. Stora förhoppningar har lagts på området.
respektlivet.nu
Genterapi – Wikipedia
https://sv.wikipedia.org/wiki/Genterapi
Om resultatet
Feedback

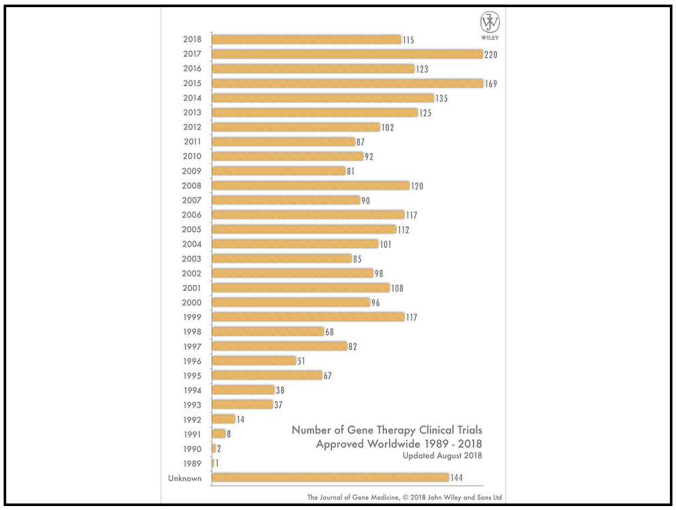
3


Genterapi
Förhoppning
Övertro
Verklighet

4

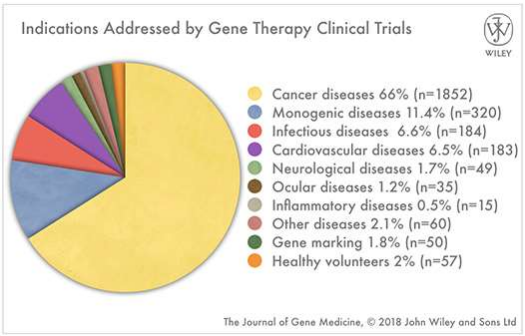


5



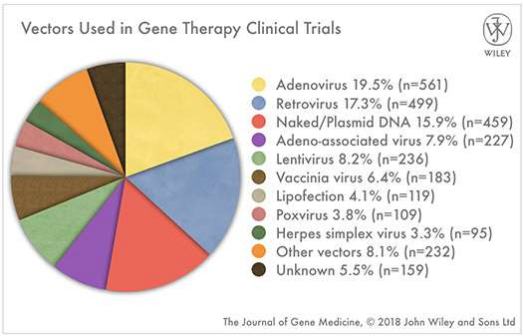
6

Pågående genterapi



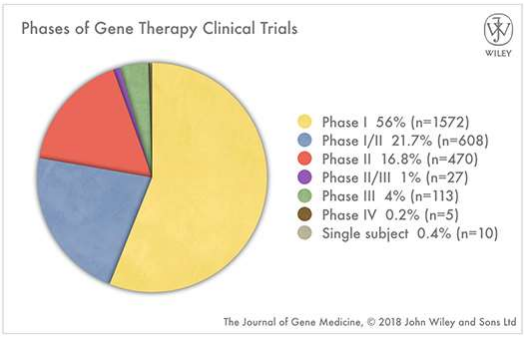
7

Pågående genterapi



8

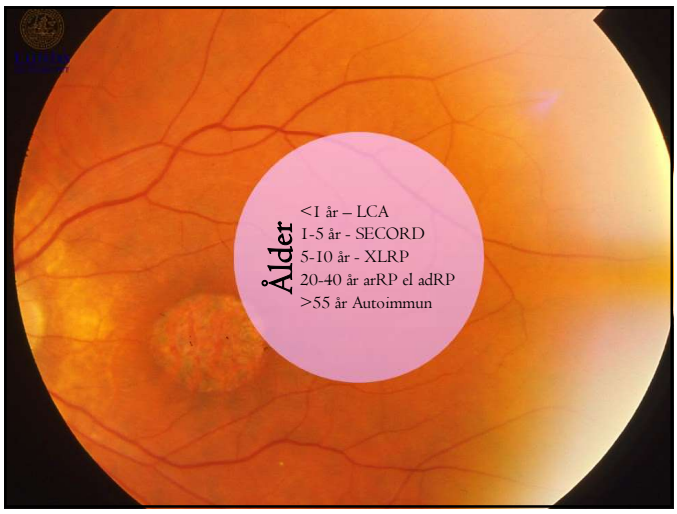
Pågående genterapi



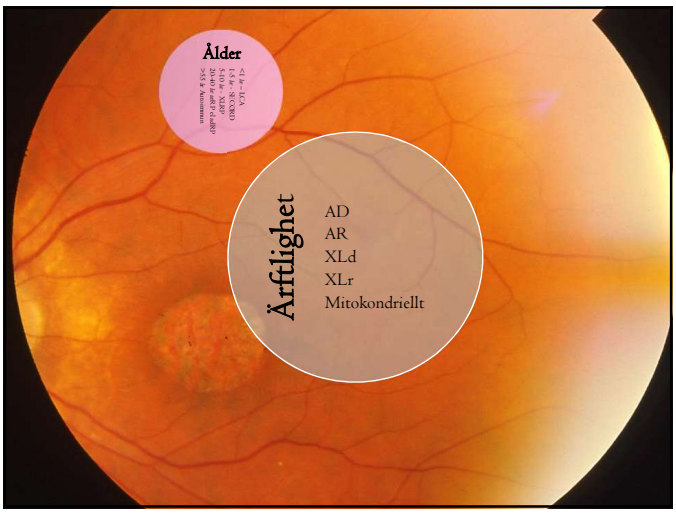
9

Vad ska vi behandla?
Hur ska vi klassificera?
När ska vi behandla?

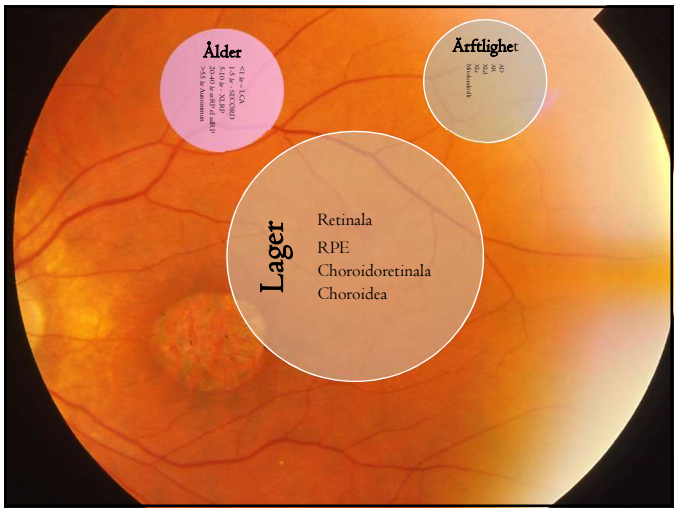
10



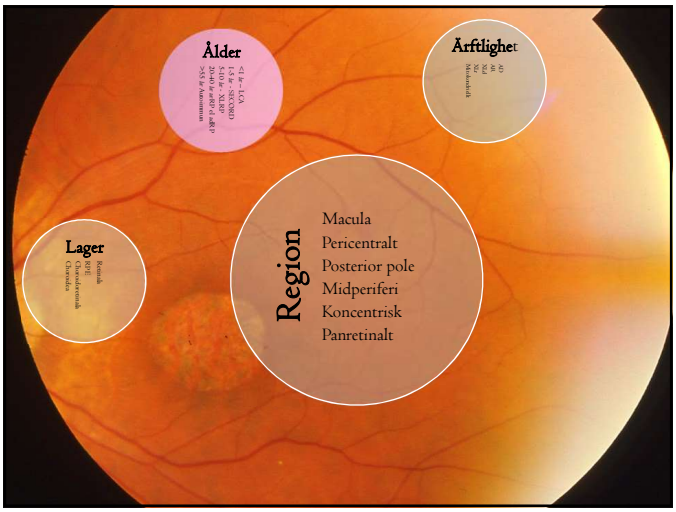
11



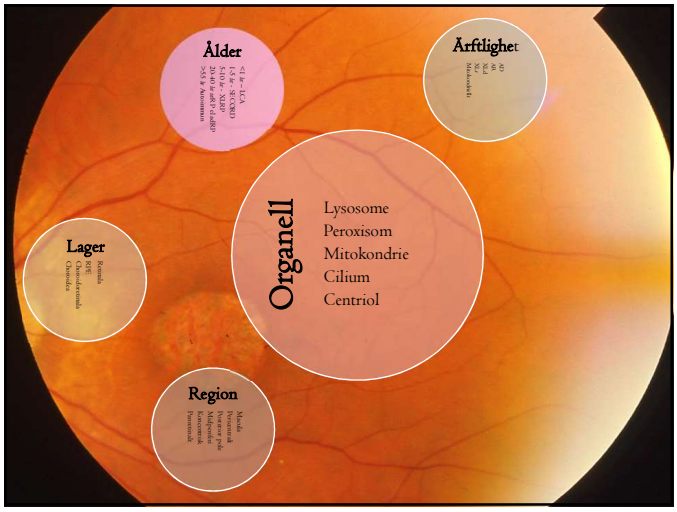
12


Ålder
Ärftlighet
Lager
Retinala
RPE
Choroidoretinala
Choroidea

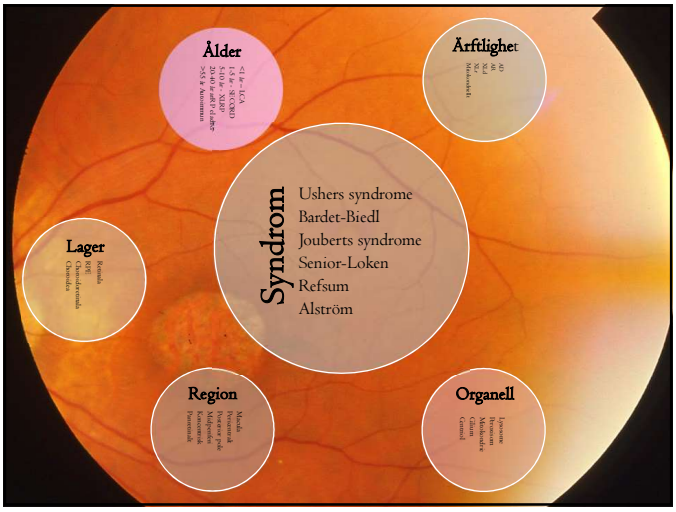
13


Ålder
Ärftlighet
Lager
Region
Macula
Pericentralt
Posterior pole
Midperiferi
Koncentrisk
Panretinalt

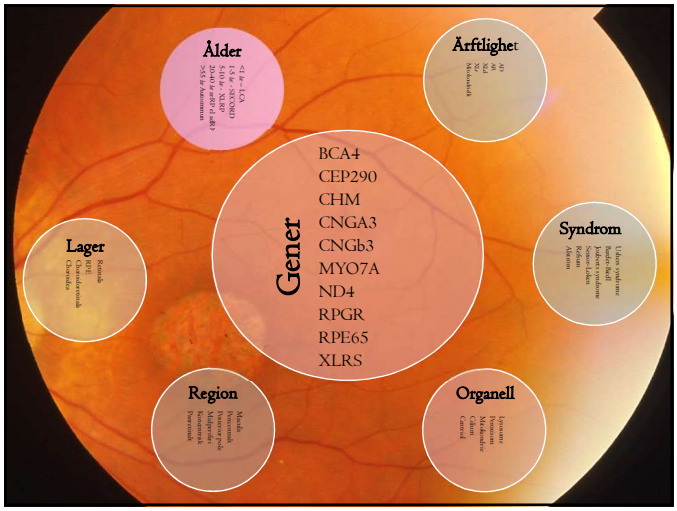
14


Ålder
Ärftlighet
Organell
Lysosome
Peroxisom
Mitokondrie
Cilium
Centriol
Lager
Region

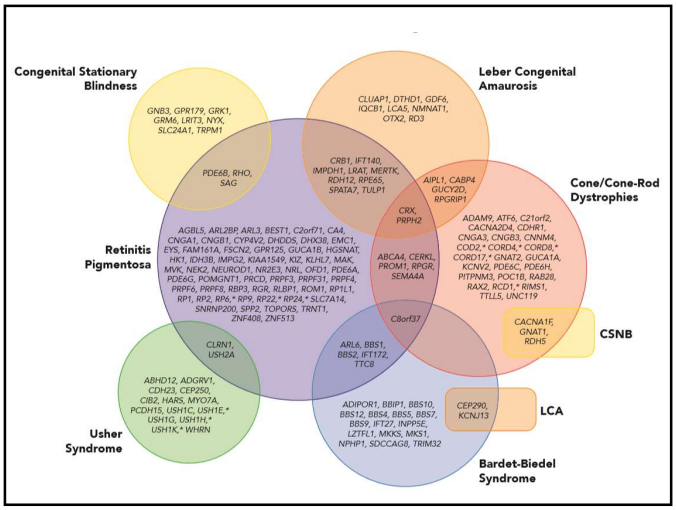
15


Ålder
Ärftlighet
Syndrom
Ushers syndrome
Bardet-Biedl
Jouberts syndrome
Senior-Loken
Refsum
Alström
Lager
Region
Organell

16



17



18

19

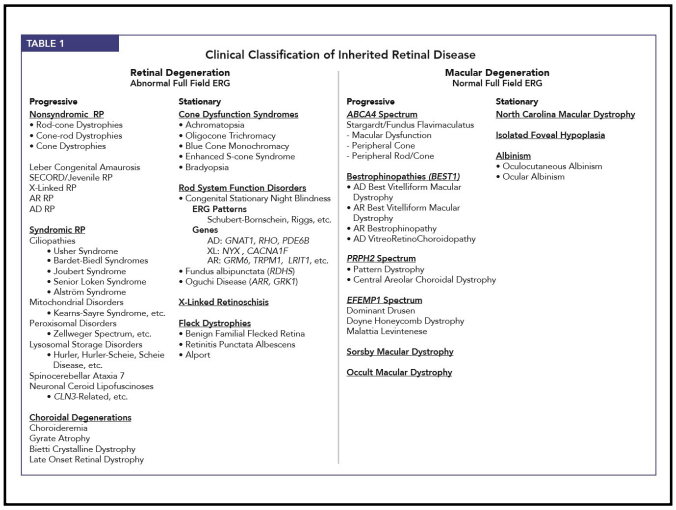


TABLE 1

Clinical Classification of Inherited Retinal Disease

Retinal Degeneration
Abnormal Full Field ERG

Progressive

Nonsyndromic RP
- Rod-cone Dystrophies
- Cone-rod Dystrophies
- Cone Dystrophies

Leber Congenital Amaurosis
SECORD/Jeveníle RP
X-Linked RP
AR RP
AD RP

Syndromic RP
Ciliopathies
- Usher Syndrome
- Bardet-Biedl Syndromes
- Joubert Syndrome
- Senior Loken Syndrome
- Alström Syndrome

Mitochondrial Disorders
- Kearns-Sayre Syndrome, etc.

Peroxisomal Disorders
- Zellweger Spectrum, etc.

Lysosomal Storage Disorders
- Hurler, Hurler-Scheie, Scheie Disease, etc.

Spinocerebellar Ataxia 7
Neuronal Ceroid Lipofuscinoses
- *CLN3*-Related, etc.

Choroidal Degenerations
Choroideremia
Gyrate Atrophy
Bietti Crystalline Dystrophy
Late Onset Retinal Dystrophy

Stationary

Cone Dysfunction Syndromes
- Achromatopsia
- Oligocone Trichromacy
- Blue Cone Monochromacy
- Enhanced S-cone Syndrome
- Bradyopsia

Rod System Function Disorders
- Congenital Stationary Night Blindness
  - **ERG Patterns**
    - Schubert-Bornschein, Riggs, etc.
  - **Genes**
    - AD: *GNAT1, RHO, PDE6B*
    - XL: *NYX, CACNA1F*
    - AR: *GRM6, TRPM1, LRIT1*, etc.
- Fundus albipunctata (*RDH5*)
- Oguchi Disease (*ARR, GRK1*)

X-Linked Retinoschisis

Fleck Dystrophies
- Benign Familial Flecked Retina
- Retinitis Punctata Albescens
- Alport

Macular Degeneration
Normal Full Field ERG

Progressive

***ABCA4* Spectrum**
Stargardt/Fundus Flavimaculatus
- Macular Dysfunction
- Peripheral Cone
- Peripheral Rod/Cone

Bestrophinopathies *(BEST1)*
- AD Best Vitelliform Macular Dystrophy
- AR Best Vitelliform Macular Dystrophy
- AR Bestrophinopathy
- AD VitreoRetinoChoroidopathy

***PRPH2* Spectrum**
- Pattern Dystrophy
- Central Areolar Choroidal Dystrophy

***EFEMP1* Spectrum**
Dominant Drusen
Doyne Honeycomb Dystrophy
Malattia Leventenese

Sorsby Macular Dystrophy

Occult Macular Dystrophy

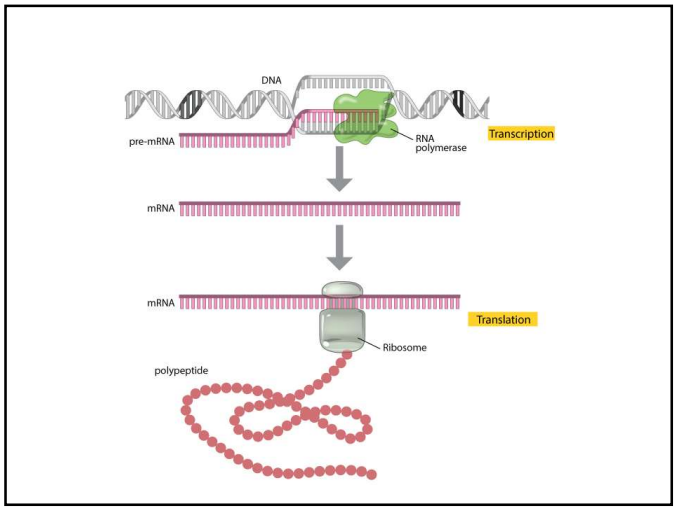
Stationary

North Carolina Macular Dystrophy

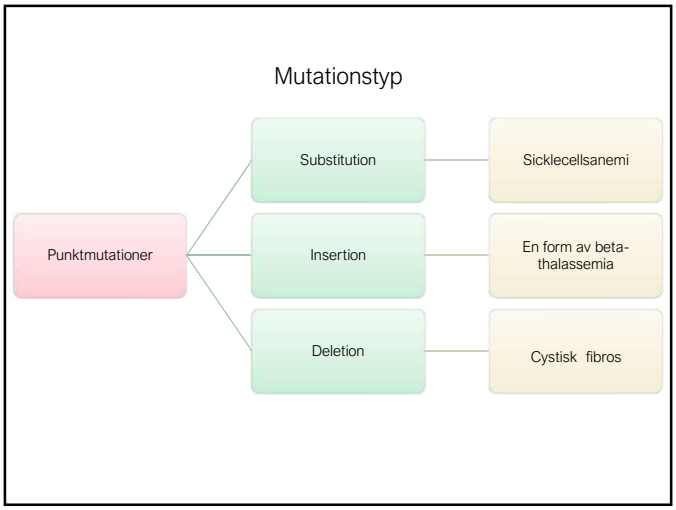
Isolated Foveal Hypoplasia

Albinism
- Oculocutaneous Albinism
- Ocular Albinism

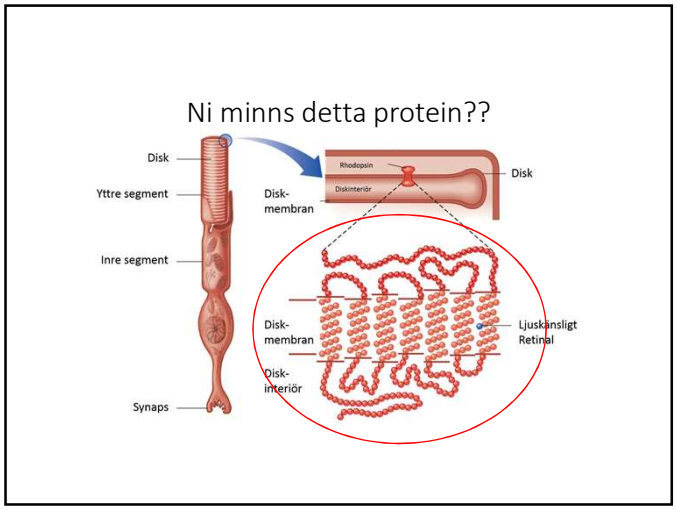
20



21



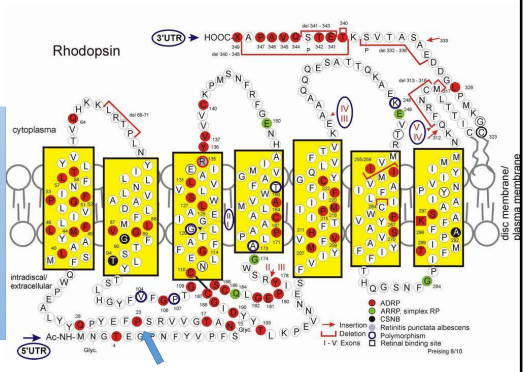
22



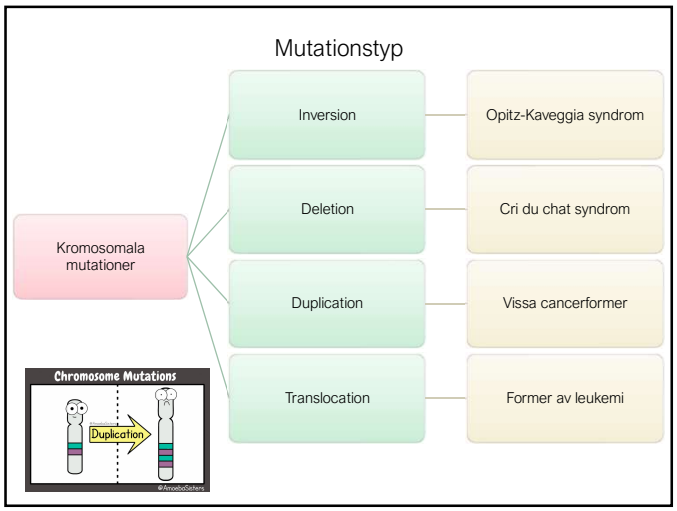
23

Rhodopsin mutationer som orsakar autosomalt dominant retinitis pigmentosa (ADRP) och relaterade sjukdomar

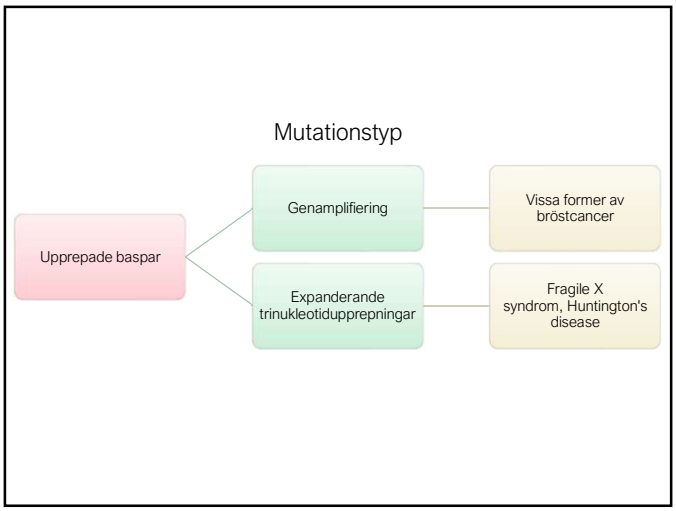
För närvarande känner man till drygt 100 olika mutationer i genen opsin som är involverade i nattblindhet eller retinitis pigmentosa. Av dessa är 89 nukleotidsubstitution er som orsakar missense eller nonsens-förändringar.



24

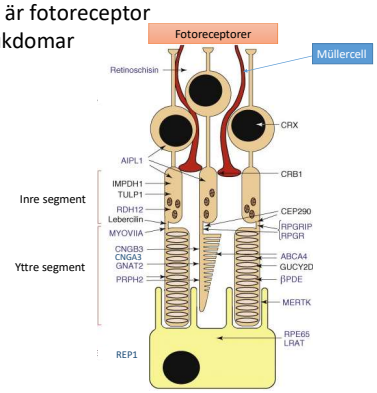


25



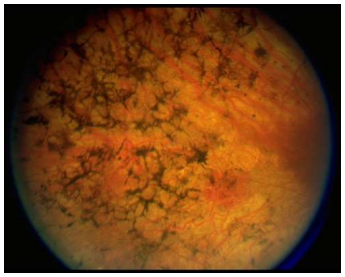
26

Ca 2/3 av alla medfödda retinala sjukdomar är fotoreceptor sjukdomar



27

Retinitis pigmentosa



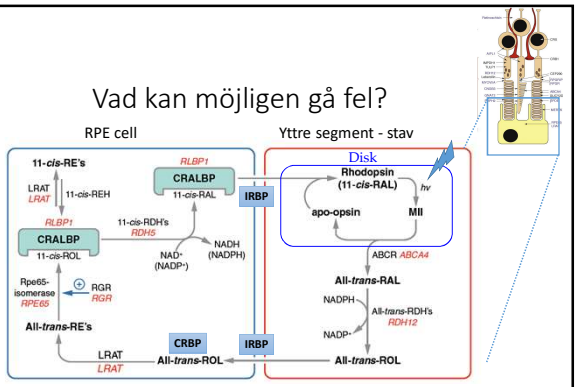
Samlingsnamn på ett hundratal ärftliga retinala sjukdomar med liknande utseende

Nedärvningsmönster	icke syndrome RP
Autosomal dominant RP (adRP)	15%-25%
Autosomal recessive RP (arRP)	5%-20%
Könsbunden RP (xlRP)	5%-15%
Unknown: simplex	40%-50%
Digenic RP	Very rare

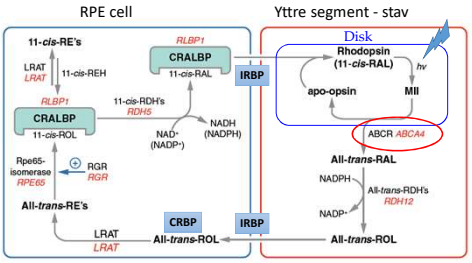
”RP” ingen fullständig diagnos

28

Vad kan möjligen gå fel?



29



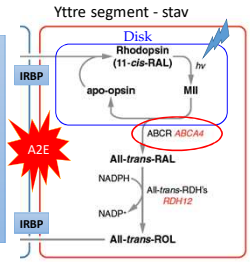
ABCA4 mutationer = Stargardts sjukdom

30

IRPB tar inte med sig allt rakt retinal. Det som blir kvar i yttersegmenten städas bort av transportproteinet **ABCA4**.

Vid ABCA4 mutation ligger **retinal** kvar för länge och bildar den mycket toxiska produkten **A2E**, som fagocyteras av RPE.

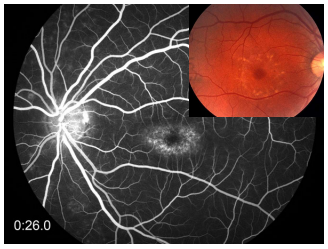
Följden blir lipofuscin och skada på RPE och fotoreceptorer redan in yngre år.



ABCA4 mutationer => Stargardts sjukdom men även andra såsom RP, tapp-stav dystrofi

31

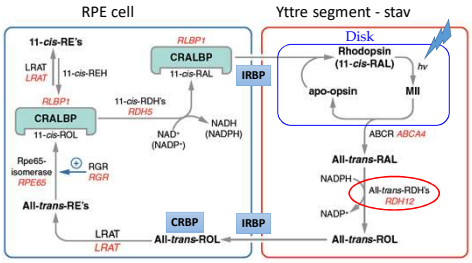
Stargardts sjukdom



- Vanligen recesiv
- Symtom före 20 år,
- Centralt synförlust först
- Progressiv synförsämring som kan leda till blindhet

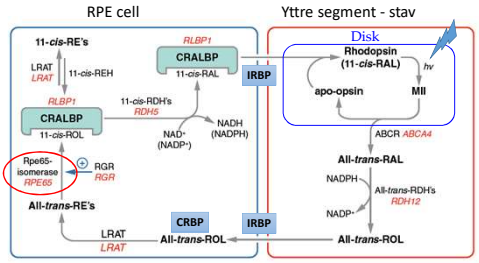
1 : 10 000

32



RDH12 mutationer = Lebers kongenitala amauros

33

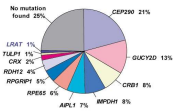


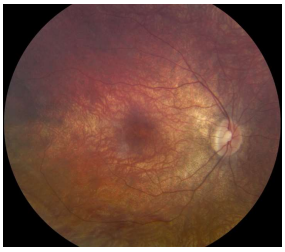
RPE65 mutationer = Lebers kongenitala amauros

34

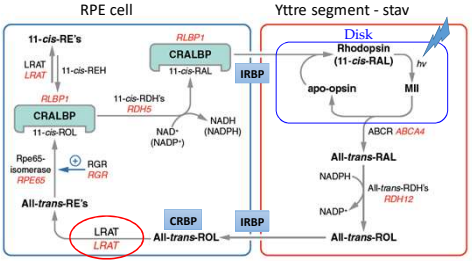
Lebers Kongenitala Amauros

- Beskriven av Leber på 1800-talet
  - Medfödd
  - Amauros
- Fotoreceptorerna utvecklas inte
- Incidens 1:80000 nyfödda
- Orsakas av flera gener bl.a.
  - RDH12
  - RPE65
  - LRAT



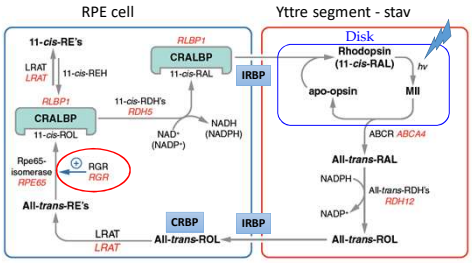


35



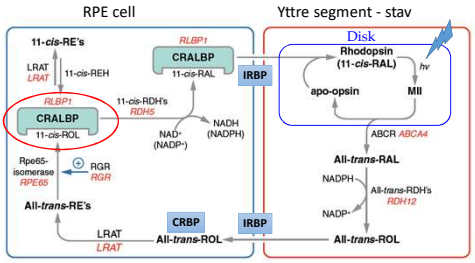
LRAT mutationer = retinitis pigmentosa eller Lebers kongenitala amauros

36



RGR mutationer = recessiv retinitis pigmentosa

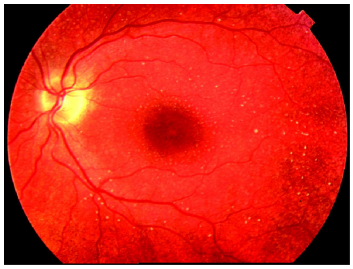
37



CRALBP mutations = Bothnia dystrofi (nonsyndromisk autosomal recessiv retinitis pigmentosa)

38

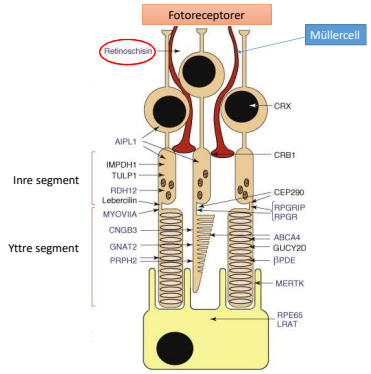
Bothnia dystrofi (Burstedt et al, 1999)



Form av RP som hos unga visar sig som
- nattblinhet
- retinitis punctata albescens,

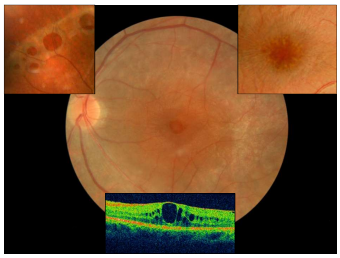
I yngre vuxen ålder följs detta av
- makuladegeneration
- pigmentering
- synskärpa < 0.1

39



40

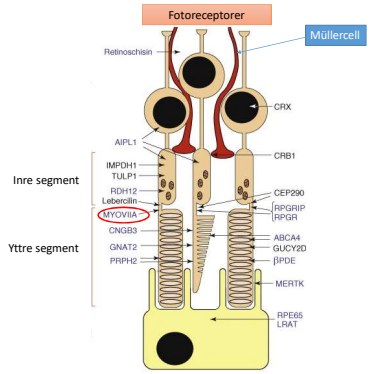
Kongenital könsbunden retinoschisis (XLRS)



Schis=delning
Nedsatt visus (ca 0.8 – FR)
Påverkad b-våg - ERG
Synfält - ofta perifer inskränkningar
Prevalens 1:5000-1:25000

Microcystiska förändringar i makula
Spoke wheel mönster
Skiktbildning i alla retinala lager.

41



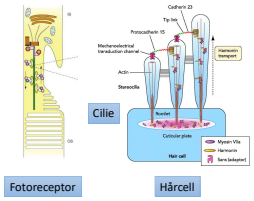
42

Ushers syndrom

Ushers syndrom typ I
- grav hörselskada
- nedsatt balans
- retinitis pigmentosa i barnåren

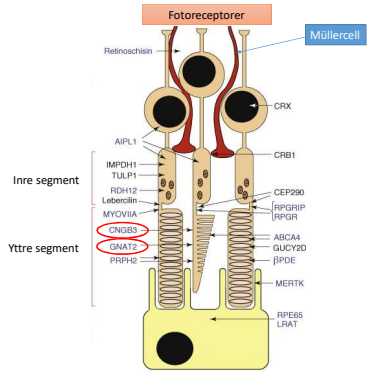
Ushers syndrom typ II
- måttlig hörselnedsättning
- inga balanssvårigheter
- senare debut av synstörningarna (tonåren)

Ushers syndrom typ III
- måttlig hörselnedsättning
- måttliga balansbesvär -> uttalade med åren
- Synstörningen i barndomsåren
- Ofta tidig katarakt (30-års ålder)



Involverade gener: MYO7A, Harmonin, CDH23, PCDH15, SANS, Usherin, VLGR1, Whirlin, Clarin-1

43



44

Sjukdom involverande tappar

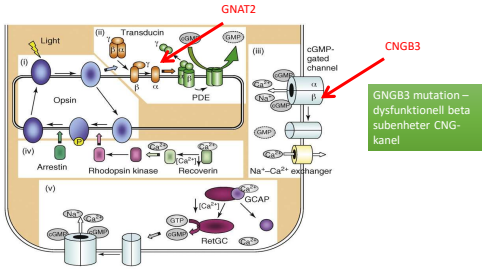
Tappdystrofi - Akromatopsi

GNAT2

CNGB3

GNAT2 mutation – dysfunktionell alfa subenheter av transducin

GNGB3 mutation – dysfunktionell beta subenheter CNG-kanel



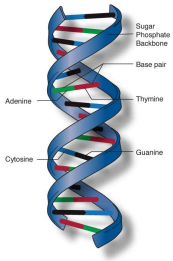
45

Behandling

Hur ska man kunna bota en ärftlig sjukdom?

46

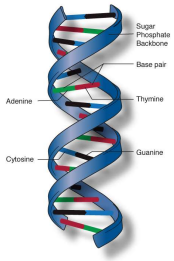
Genterapi=Genterapi?



47

Gene Augmentation

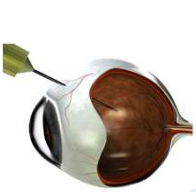
- Monogena sjukdomar
- Könsbundna
- **Recessiva**

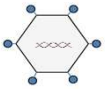


Inget protein → Ersätt protein → Gene Augmentation

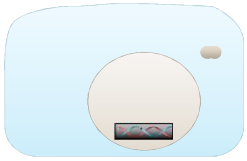
48

Bärare av gen - Vektor





Frisk gen



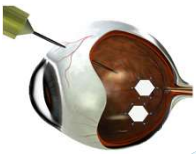
Inget funktionelt protein

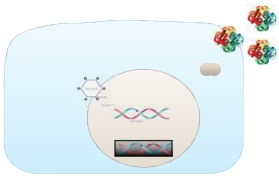
Retinal cell

Inget protein → Ersätt protein → Gene Augmentation

49

Vektor + *frisk* gen





Fungerande protein

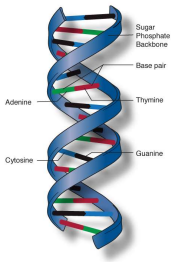
Retinal cell

Inget protein → Ersätt protein → Gene Augmentation

50

Gene Editing

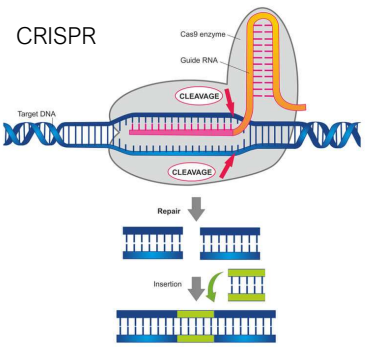
- Monogena sjukdomar
- Könsbundna
- **Dominanta**



Felaktigt protein → Fixa felaktigt protein → Gene Editing

51

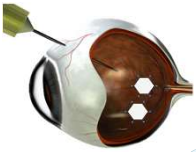
CRISPR

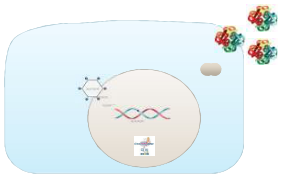


Felaktigt protein → Fixa felaktigt protein → Gene Editing

52

Vektor + *CRISPR* + frisk gen





Fungerande protein

Retinal cell

Felaktigt protein → Fixa felaktigt protein → Gene Editing

53

Jämförelse av virusvektor vid genterapi

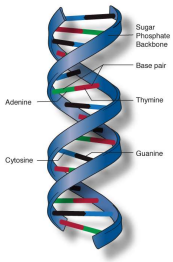
	Adenovirus	Adeno-Associated Virus (AAV)	Lentivirus (retrovirus)
Pathogenic	Low	No	No
Integration Into Target Cell Genome	No	No*	Yes
Immunogenicity	High	Very low with subretinal delivery; Higher with intravitreal delivery	Low
Infects Dividing Cells	Yes	Yes	Yes
Infects Non-dividing Cells	Yes	Yes	Yes (with less efficiency)
Transgene Expression	Transient	Prolonged (Transient or stable)	Prolonged (Transient or stable)
Relative Viral Titer	Very High	High	High
Carrying Capacity	7.5 kb	4.5-4.9 kb	8 kb

*Native AAV will integrate, but recombinant AAV rarely does

54

RNA Transcript Editing
Antisense oligonucleotides (ASO) terapi

- Känd mutation
- RNA - selektivt blockera
- Multigena sjukdomar
- Könsbundna
- Recessiva
- **Dominanta**



Felaktigt protein → Stoppa felaktigt protein → RNA Transcript Editing

55

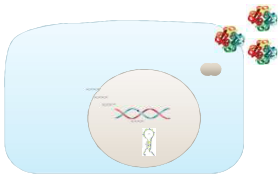
RNA Transcript Editing
Antisense oligonukleotid (ASO) terapi

- Recessiva sjukdomar kan det innebära blockad av patologiskt del av proteinet och resterande fungerar ex CEP290. Mutationen sitter i ett intron.
- Vid dominant RP att man blockerar den patologiska allellen ex RHO23
- Det behövs ej vehiklar eller virus för transport av RNA. Man förändra basen (backbone of the nucleobase) till RNA så att de direkt passera in i cellen
- Halveringstid i cellen c:a 45 dagar
- Behandling planeras fyra gånger/år
- Behandling genom intravitreala injektioner
- Motsatt genterapi där behandling sker inom lokaliserat området kan denna spridas till större område

Felaktigt protein → Stoppa felaktigt protein → RNA Transcript Editing

56

ASO - oligonukleotid

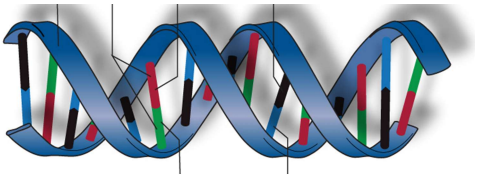


Fungerande protein

Retinal cell

Felaktigt protein → Stoppa felaktigt protein → RNA Transcript Editing

57



1. **Gene Augmentation**: Ersätt saknat eller felaktigt protein genom att lägga till en ”ny frisk gen”
2. **Gene Editing:** Rätta felaktigt protein genom att ändra genmutationen
3. **RNA Transcript Editing** (Antisens oligonukleotid terapi): Stoppa produktion av felaktigt protein eller ”rätta” till mRNA

58

Mutation-independent rhodopsin gene therapy by knockdown and replacement with a single AAV vector.

Dominant form av RP – RHO mutation

AAV vektor med shRNA och RHO-gene

Subretinal vector injections led to nearly complete suppression of endogenous canine RHO RNA, while the replacement cDNA resulted in up to 30% of normal RHO protein levels.

Mutation-independent rhodopsin gene therapy by knockdown and replacement with a single AAV vector. CIDECIYAN AV, Sudharsan R, Dufour VL, Massengill MT, Iwabe S, Swider M, Lisi B, Sumaroka A, Marinho LF, Appelbaum T, Rossmiller B, Hauswirth WW, Jacobson SG, Lewin AS, Aguirre GD, Beltran WA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 115(36):E8547-E8556, 2018.*

59

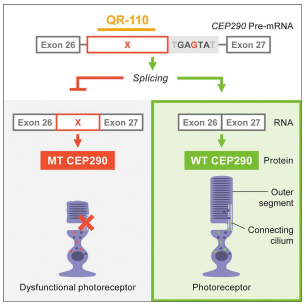
Pågående kliniska genterapistudier	
Leber congenital amaurosis (LCA)	
RPE65 / (AAV2)	Florida, UPenn
RPE65 / (AAV2)	Spark Therapeutics: USA
RPE65 / (AAV2)	AGTC: USA
RPE65 / (AAV2)	Spark Therapeutics: USA
Leber congenital amaurosis (LCA) - Antisense oligonukletid	
CEP290 (ASO)	ProQR Therapeutics, USA
Choroideremia (CHM)	
CHM / (AAV2)	Spark Therapeutics: USA
CHM / (AAV2)	Byron Lam: Bascom Palmer, USA
CHM / (AAV2)	Tubinge, Tyskland
X-linked retinoschisis (XLRS)	
RS1 / (AAV8)	NEI: NIH Clinical Center, USA
RS1 / (AAV2tYF)	AGTC, USA
Achromatopsia (ACHM)	
CNGB3 / (AAV)	AGTC, USA
CNGB3 / (AAV)	MeiraGTx, UK
CNGA3 / (AAV)	AGTC, USA
CNGA3 / (AAV)	Tubinge, Tyskland
Stargardt (STGD)	
ABCA4 / (EIAV)	Sanofi Paris, Casey Iowa
Usher syndrome (USH)	
MYO7A / (EIAV)	Sanofi Paris (UshStat), Casey Iowa
Retinitis pigmentosa	
PDE6B (AAV)	Horama, Frankrike
Retinitis pigmentosa (RP) – Optogenetics	
Channelrhodopsin-2 (*ChR2*) / (AAV)	Allergan (RetroSense Therapeutics), GenSight
X-bunden Retinitis pigmentosa	
RPGR(AAV)	AGTC, USA
RPGR(AAV)	MeiraGTx, UK
RPGR(AAV)	NightStar, USA

60

Aktuella kliniska behandlingsstudier vid ärftliga näthinnesjukdomar

Behandling av LCA 10 (Cys998X i CEP290)
Interim results of the QR-110 phase 1/2 trial (PQ-110-001)
The results of the interim analysis are encouraging. Approximately 60% of participants showed improvements in visual acuity and functional vision after three months.

ProQR expects to start a Phase 2/3 trial called "ILLUMINATE" in 2019



Basal exon skipping and nonsense-associated altered splicing allows bypassing complete CEP290 loss-of-function in individuals with unusually mild retinal disease.
Barny I1, Perrault I1, Michel C1, Soussan M1, Goudin N2, Rio M3, Thomas S4, Attié-Bitach T4, Hamel C5, Dollfus H6, Kaplan J1, Rozet JM1, Gerard X1. Hum Mol Genet. 2018 May 16.

61

Lenadogene Nolparvovec (LN) – behandling av ND4-mutation associerad hereditära optikusneuropati (LHON) (11778G>A)

- **Mitokondriesjukdom**
- **Mutationen leder till GC-död och optikusatrofi**

- **3 pågående fas 3 studier (37 behandlade ögon/37 sham)**
- **RESCUE <6 mån**

- **REVERSE >6 mån till 1 år**
  Vid 48-veckokontroll post inj medel 11 bokstäver bättre jmf med baseline men även obehandlade visade förbättring med 10 bokstäver
- **REFLECT > 1 år**

62

Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial.

20 patienter behandlade patienter
9 kontrollpatienter
Vitrektomi och subretinal vid injektion av läkemedlet.

Båda ögonen behandlades men inget öga i kontrollgruppen.
Ett år efter behandling hade man inte iakttagit några allvarligare komplikationer till det kirurgiska ingreppet och inga tecken på större immunologiska reaktioner.

Undersökningarna **efter ett år** visade på **signifikant förbättring** beträffande **synfält, synskärpa samt framförallt förmågan att lättare och snabbare klara mobilitetstesten** (MLMT) jämfört med kontrollgruppen.

I genomsnitt gick den behandlande gruppen från att klara MLMT vid 50 lux till 4 lux
65% klarade den lägsta gränsen 1 lux vid 1 års mätning, ingen av de obehandlade klarade detta

Luxturna

Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial.
Russell S1, Bennett J2, Wellman JA3, et al. *Lancet. 2017 Aug 26;390(10097):849-860*

63

64