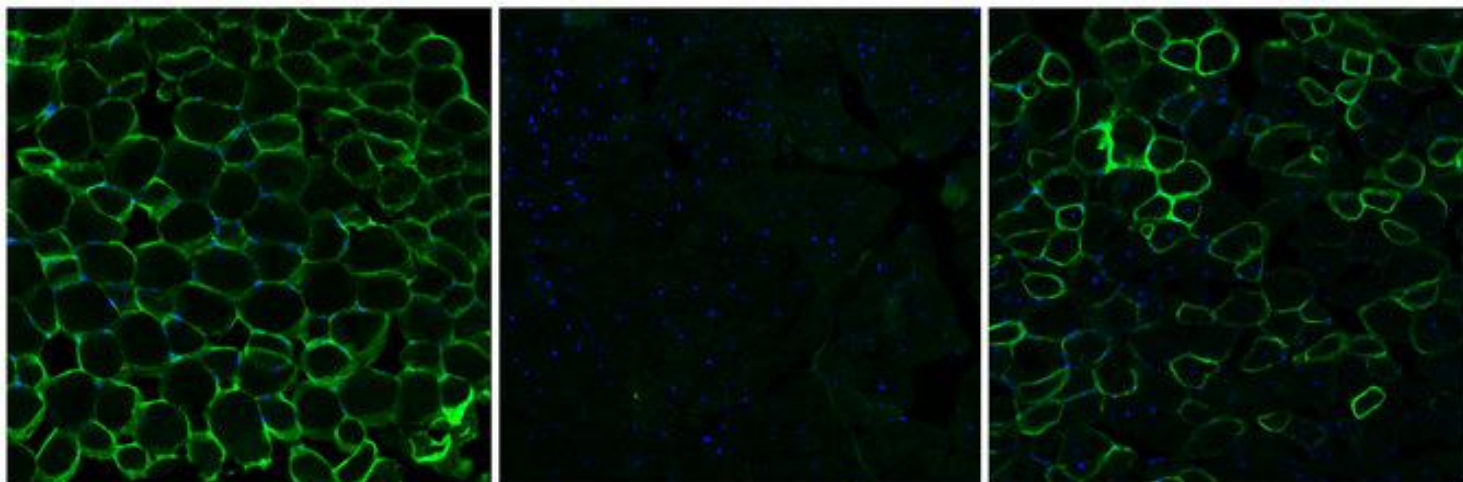


Studie zjistily, že editace genu nabízí naději pro léčbu Duchennovy svalové dystrofie

Nicholas Wade



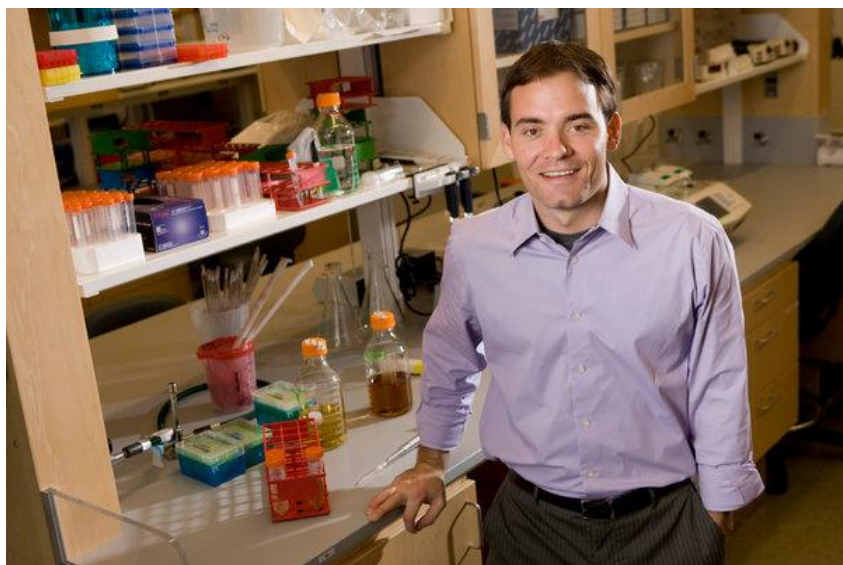
Tři části svalové tkáně myši. Zleva: normální, zdravá tkáň; tkáň s DMD; tkáň po léčbě pomocí editace genu. Christopher Nelson

Po desetiletích znepokojivě pomalého postupu výzkumníci udělali značný krok směrem k možné léčbě Duchennovy svalové dystrofie pomocí velmi účinné nové techniky editace genů.

Duchennova svalová dystrofie je progresivní onemocnění svalů, postihuje chlapce, kolem 10 let věku je nutí k používání invalidních vozíků a následně způsobuje předčasnou smrt v důsledku srdeční vady nebo potíží s dýcháním. Onemocnění způsobují defekty v genu, který kóduje protein zvaný dystrofin, nezbytný pro řádnou funkci svalu.

Protože se jedná o onemocnění zničující a nevyléčitelné a dědičnou nemoc, je již dlouho cílem genové terapie. Doposud však bez úspěchu. Alternativní terapie léky založenými na chemikáliích známých jako antisense oligonukleotidy je ve fázi klinických studií.

Avšak genová terapie - nápad léčit genetické onemocnění vkládáním správných genů do poškozených buněk - zažívá comeback. Nová technika Crispr-Cas9 umožňuje výzkumníkům krájet chromozomální DNA na vybraných místech tak, aby se odstranily nebo vložily různé segmenty.



Charles A. Gersbach z Duke University vedl jeden ze tří týmů, které nezávisle použily techniku Crispr - Cas9, aby léčily myši s vadným genem, který vede k Duchennově svalové dystrofii. Duke University

Zmíněné tři výzkumné skupiny pracovaly na sobě nezávisle a v časopise Science ve čtvrtek ohlásily, že použily techniku Crispr - Cas9 k léčbě myši s vadným dystrofinovým genem. Každá skupina zavedla systém krájící DNA do viru, který nakazil svalové buňky myši, a odstranil z genu vadný úsek, tzv. exon.

Bez defektního exonu svalové buňky vyrobily zkrácený dystrofinový protein, který byl nicméně funkční, a všechny myši díky němu měly více síly.

Týmy vedl Charlesem A. Gersbach z Duke University, Erik N. Olson ze Southwestern Medical Center na University of Texas a Amy J. Wagers z Harvard University.

"Jsou to dost významné odborné články," řekl Louis M. Kunkel, odborník na svalovou dystrofii z Boston Children's Hospital, který objevil dystrofinový gen v roce 1986.

Dystrofinový protein má stavební funkci a stará se o ukotvení každého svalového vlákna k membráně, která obepíná svazek svalových vláken. Dystrofinový gen, který usměrňuje produkci proteinu v buňce, zabírá přibližně 1 procento v chromozómu X a je největší v lidském genomu.

Tento gen má 79 sekcí neboli exonů, ale může evidentně plnit dostatečnou funkci, dokonce i když několik exonů uprostřed chybí. Pokud jsou oba jeho konce nedotčené, protein funguje. Toto se děje při mírné formě nemoci, známé jako Beckerova svalová dystrofii, při které mutace způsobí vynechání instrukcí u několika exonů během procesu vytváření proteinu. Při Duchennově svalové dystrofii však mutace způsobí, že svalové buňky vytvoří zkrácený protein s jedním scházejícím koncem, a tento protein nefunguje vůbec.



Tým vedený Amy J. Wagers z Harvard University použil virus měnící gen a nakazil jím kmenové buňky, které vytváří nové svalové buňky. Drew Angerer pro The New York Times

Tento rozdíl naznačuje možnou léčebnou strategii: odstranění poškozených exonů tak, aby svalové buňky pacientů s DMD produkovaly nepoškozený, i když kratší dystrofinový protein, jako je tomu u pacientů s BMD.

Určitý laboratorní druh myši má svalovou dystrofii typu Duchenne, a kvůli mutaci v oblasti 21. exonu mu chybí větší část dystrofinového proteinu. Tým Dr. Olsona v roce 2014 ohlásil, že se jim podařilo editovat poškozený exon a svalové buňky po jeho vystřížení produkovaly fungující protein.

Editace genu byla provedena v oplodněném vajíčku myši, a vytvořila dědičné změny v myším genomu. Vytváření takových

změn v lidském genomu je zakázáno, a v každém případě by u pacientů se svalovou dystrofií přišel takový zásah příliš pozdě. V dalším kroku se proto Dr. Olson zaměřil na to, zda bude schopen vytvořit stejný výsledek ve svalstvu mladých myší.

Ve čtvrté publikované studii tým Dr. Olsona ohlásil, že systém pro editaci genu nahrál do neškodného viru společně s instrukcí, která směřovala k provedení řezů na obou koncích 21. exonu. Virus infikoval svalové buňky v celém těle myši a vystříhl exon z dystrofinového genu.

Svalové buňky opravily DNA spojením rozdělených kusů chromozómu a vznikl účinný dystrofinový protein.

Další dva týmy provedly téměř úplně stejný experiment. Každý tým sledoval linii vlastního předchozího výzkumu. Skupina Dr. Gersbacha v roce 2015 ohlásila, že pomocí editační techniky Crispr-Cas9 se jim podařilo odstranit exony 45-55 z dystrofinového genu buněk pacientů s DMD, vypěstovaných v laboratorních kulturách. Po odstranění poškozených exonů buňky začaly produkovat dystrofinový protein.

Mutace v těchto exonech má více než 60 procent pacientů s DMD. Tento přístup by pro ně tedy mohl mít velký význam.



Erik N. Olson z texaské univerzity (Southwestern Medical Center) vedl tým, který pracoval na změnách ve svalech mladých myší po loňském úspěchu s editací genů v oplodněných myších vajíčkách. David Gresham

Dr. Wagers se dlouho zajímá o kmenové buňky, které vytváří nové svalové buňky. Experiment jejího týmu se od ostatních lišil v tom, že se zaměřil vyloženě na to, zda by virus měnící gen dokázal infikovat kmenové buňky. A zjistil, že mohl.

Léčba pacientových svalových kmenových buněk by mohla přinést trvalejší výsledek než pouhá změna svalových buněk. Ty se u pacientů s dystrofií narozdíl od zdravé populace velmi rychle mění.

Všechny tři týmy požádaly o patenty. Do zahájení klinických studií s pacienty však zbývá ještě pořádný kus práce.

Není jasné, jak by lidský imunitní systém reagoval na komponenty genového editačního systému nebo na upravený dystrofinový protein, na který by nebyl zvyklý.

Pokud se podaří vyvinout genovou léčbu pro svalové dystrofie, bude konkurencí léčivům na bázi oligonukleotidů, která jsou v současné době v klinickém výzkumu. Tato léčiva fungují na stejném principu - zbavují účinnosti poškozené exony - nikoliv však jejich vystřížením z DNA, nýbrž tím, že nutí exony k přeskočení (skippingu) v pozdější fázi produkce proteinu.

Oligonukleotidová léčiva však příliš uspokojivě neřeší stav srdečního svalu a jejich podávání je třeba každý týden opakovat. Léčba na bázi genové terapie by měla vydržet déle.

"Výhodou přístupu cíleného na DNA je, že buňkám nezbyvá nic jiného, než zkrátka vytvořit protein, který požadujete, " řekl Dr. Wagers.

Ozývají se také obavy, že by po první injekci s léčbou mohla u pacientů vzniknout rezistence k viru, který se pro editaci defektních exonů používá. Ale Dr. Gersbach je nepovažuje za opodstatněné.

"Nadějí genové léčby je, že pokud se nám vše povede, bude nutná jen jednorázová léčba," řekl. "Pokud se prokáže bezpečnost této metody, mohla by být léčba pacientům aplikována v dohledné budoucnosti."

Dr. Olson uvedl, že postup by byl rychlý.

"Před spuštěním klinické studie potřebujeme ještě zvýšit dávky, zlepšit účinnost a zhodnotit bezpečnost, " uvedl Dr. Olson. "Myslím, že tyto záležitosti se podaří vyřešit během několika málo let."

Zdrojový text: http://www.nytimes.com/2016/01/01/science/gene-therapy-muscular-dystrophy.html?smprod=nytcore-iphone&smid=nytcore-iphone-share&_r=1