

Fremskridt i somatisk genterapi

STATUSARTIKEL

Cand.scient. Jacob Giehm Mikkelsen &
Thomas Gryesten Jensen

De seneste års medicinske og bioteknologiske landvindinger har i samspil med en øget forståelse af den genetiske og biokemiske baggrund for en række sygdomme, senest kortlægningen af det humane genom, sået håb om genbaseret sygdomsbehandling som et reelt alternativ til de nuværende behandlingsformer. De terapeutiske muligheder og strategier kan synes uendelige, men alligevel er human somatisk genterapi endnu langt fra almindelig praksis, og en række tekniske, sikkerhedsmæssige og ikke mindst produktionsrelaterede fremskridt er nødvendige for etableringen af fremtidige kliniske behandlinger.

Genterapi kan i al enkelhed defineres som overførsel af nukleinsyrer, DNA eller RNA til celler med det formål at behandle sygdomme. Ideen om effektiv overførsel af gener til »syge« celler voksede i starten af 1980'erne ud af basale studier af virus, der naturligt er i stand til at transportere genetisk materiale og overføre denne genlast til specifikke værtsceller. Dengang som nu syntes især monogene sygdomme at være oplagte mål for genterapeutisk behandling, men kliniske forsøg rettes i dag tillige mod virusinfektioner, hjerte-kar-sygdomme og i overvejende grad mod en række cancerformer (Fig. 1). Hidtil har mere end 3.500 patienter deltaget i mere end 600 kliniske forsøg (3). På trods af adskillige lovende rapporter fra cellekulturstudier, prækliniske

dyreeksperimenter og initiale kliniske forsøg har genterapifeltets første leveår vist sig at være særdeles magre på kliniske succeser. En kombination af store videnskabelige forventninger, velmente, men ofte tomme løfter og senest en ung mands tragiske død (forårsaget af et uventet kraftigt immunrespons mod den genbærende virusvektor) ved et klinisk genterapiforsøg i 1999 har givet grund til selvransagelse og har kastet lys på behovet for ny teknologi og yderligere basal viden på en række områder. Således tilskyndes nu mere end nogensinde udviklingen af immunologisk »neutrale«, virale genvektorer og i stigende grad ikkevirale vektorer, der for visse applikationer synes at være et både effektivt og mere sikkert alternativ til virale systemer.

Sideløbende med den igangværende udvikling af genvektorer, der uden sikkerhedsmæssige risici og med høj effektivitet og specificitet kan fragte det terapeutiske gen til det ønskede organ eller væv, udvides definitionen af genterapi. Der udvikles og finjusteres netop nu en række nye teknologier, herunder *antisense*-teknologi, *RNA-interference* (RNAi), DNA-baseret vaccination, anvendelse af replikationsdygtige onkolytiske virus i cancerbehandling samt genkorrektion og exon-skipning med potentiale for fremtidig klinisk succes. Hertil kommer en øget forståelse af somatiske stamcellers mulige potentiale til transdifferentiering og metoder til opformering af disse (4, 5). Vi beskriver her de nyeste og mest lovende genvektorer og strategier i genterapi hos mennesker og gør status over de hidtidige kliniske højdepunkter.

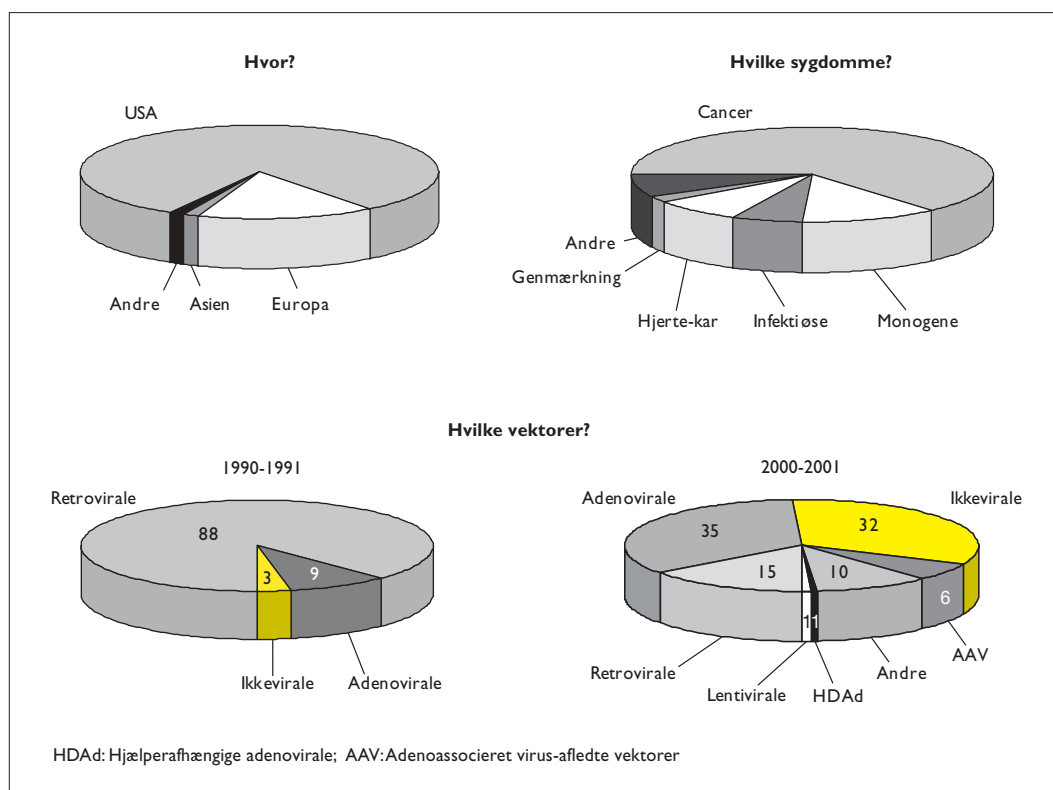


Fig. 1. Kliniske genterapiprojekter. Data er fra (1) og (2).

Virale og ikkevirale genvektorer

Vellykket klinisk genterapi afhænger af anvendelsen af vektorer – molekylærbiologiske kurerer – der effektivt, sikkert og med stor nøjagtighed kan transportere et givent terapeutisk gen til målceller i patienten. Hertil kommer krav til den ideelle vektor om bl.a. reguleret eller balanceret transgenudtryk, varig genekspression, ikkeinvasiv vektoradministration og rentabel storskalaproduktion.

Virus – som retrovirus og adenovirus – har gennem millioner af år udviklet evnen til effektivt at inficere bestemte celletyper og skaffe sig adgang til cellernes genekspressionsapparat med henblik på yderligere virusdannelse. Disse egenskaber udnyttes i dag i de fleste af igangværende kliniske protokoller. Konceptet er ganske simpelt: Ved genetisk manipulation af det virale genom erstattes virale gener med et eller flere transgener, der således som en integreret del af virusgenomet kan »pakkes« i rekombinante viruspartikler og overføres ved infektion. Skønt det på papiret forekommer at være simpelt, er det nu klart, at de mangfoldige krav, der stilles til genterapivektorer, ikke kan opfyldes af én perfekt vektor, og at valget af vektor i høj grad afhænger af den enkelte virus' biologiske egenskaber og af sygdommen, der ønskes behandlet.

Retrovirale vektorer

Fra genterapiens start var vektorer, der var afledt fra murine retrovirus, de mest foretrukne i kliniske forsøg (Fig. 1). Retrovirus udmærker sig primært ved effektivt at kunne integrere den medbragte genetiske information i værtscellens genom. Herved sættes et genetisk »fodspor«, som bibeholdes i hele den inficerede celledens levetid, og som muliggør et varigt udtryk af det overførte transgen. Skønt vektorintegration er ønskværdig for en række applikationer, følger med denne egenskab risikoen for at påvirke eller helt ødelægge gener i værtscellen og derved inducere cancer, eftersom det ikke på nuværende tidspunkt er muligt at målrette vektorintegration mod bestemte loci i inficerede cellers genom. Da retrovirus kun inficerer celler i deling, er disse vektorer ikke velegnede for applikationer, der indebærer *in vivo*-genoverførsel til f.eks. nerve-, muskel- og leverceller. De er bedst egnede for applikationer, der muliggør *ex vivo*-genoverførsel til celler i deling efterfulgt af tilbageførsel til patienten.

Lentivirale vektorer

Lentivirus, gruppen af såkaldte komplekse retrovirus, der rummer bl.a. hiv, adskiller sig fra simple retrovirus bl.a. ved effektivt at inficere såvel ikkedelende som delende celler. Lovende prækliniske forsøg har vist, at hiv-baserede vektorer, der er injiceret i mus eller rotter, effektivt kan overføre transgener til færdigdifferenterede og ikkedelende celler i bl.a. hjerne, lever, nyre, øje og led (6, 7). Genetisk korrektion af stamceller er et andet attraktivt mål for behandling af en række sygdomme. Stamceller, f.eks. i det hæmatopoietiske system, transduceres effektivt *ex vivo* med lentivirale vektorer, og i prækliniske studier med aber har man vist, at reimplanterede stamceller, der bliver behandlet med en hivvektor, giver ophav til stabil transgenekspression i samtlige

afledte celletyper (8). Skønt brugen af hiv eller andre lentivirale vektorer snart bliver mulig i klinikken, synes der stadig at være sikkerhedsmæssige hensyn at tage; således kan risikoen for dannelse af replikationsdygtige hiv-virus i forbindelse med vektorproduktion eller -administration på nuværende tidspunkt ikke fuldstændigt afvises. Den første foreslåede kliniske protokol, hvor hiv-vektorer, der bærer et gen, der giver resistens over for hiv-infektion, søgtes anvendt i *ex vivo*-genoverførsel til T-lymfocytter (9), afventer bl.a. på denne baggrund stadig godkendelse fra den amerikanske sundhedsstyrelses rådgivende komité, RAC.

Adenovirale vektorer

Adenovirusafledte vektorer faciliterer effektiv genoverførsel til en bred vifte af såvel delende som ikkedelende celler og kan i modsætning til retro- og lentivirale vektorer produceres i særdeles høje koncentrationer (op til 10^{12} viruspartikler pr. ml). Skønt denne vektortype lige nu er den mest populære i kliniske forsøg (Fig. 1), lider hidtil anvendte adenovirale vektorer af: 1) en manglende evne til at indsætte det medbragte transgen i værtscellens DNA, med det resultat at genekspressionen er kortvarig og yderligere vektorbehandling er nødvendige, og 2) et kraftigt immunrespons mod primært virusproteiner, der er produceret fra vektorens tilbageværende virale gener. Mens førstnævnte problem søges løst ved udvikling af hybridvektorer (se nedenfor), er samtlige adenovirale gener blevet fjernet i den nyeste generation af hjælperafhængige adenovirusvektorer. Derved reduceres vektorens immunogenicitet, og samtidig skabes der plads til større gener i vektoren. Til gengæld kompliceres og forlænges produktionsprocessen. I juni 2001 påbegyndtes de første kliniske forsøg med hjælperafhængige adenovirus; data fra én patient, der er behandlet for hæmofili A, viser, at et terapeutisk niveau af koagulationsfaktor VIII kan måles mere end et halvt år efter virusinjektionen (10).

Alternativt til anvendelsen af adenovirale vektorer som bærere af terapeutiske gener testes genmodificerede replikationskompetente adenovirus – såkaldte onkolytiske virus – som et muligt våben i cancerbehandlingen. Disse virus replikerer selektivt i og lyserer visse typer af cancerceller og har i prækliniske studier vist sig effektivt at inhibere tumorvækst. En onkolytisk adenovirus – kaldet ONYX-015 – anvendes i øjeblikket i seks kliniske forsøg, der er rettet mod forskellige cancerformer.

Adenoassocieret virus-vektorer

Adenoassocieret virus serotype 2 (AAV2) er det nyeste skud på stammen af virus, der er anvendt med nogen succes i kliniske forsøg. AAV2 er ikke patogen hos mennesker og inficerer en række såvel delende som ikkedelende celletyper, dog med varierende effektivitet og for den afledte vektors vedkommende uden at medføre effektiv integration af transgenet i værtscellens genom. Anvendelsen af AAV2-vektorer begrænses af, at størstedelen af befolkningen er eller har været inficeret med AAV2, og derfor bærer AAV2-specifikke neutraliserende antistoffer; desuden vanskeliggøres evt. gentagne vektorbehandlinger af et vektorspecifikt immunrespons. Med et stigende kendskab til AAV's biologi og ud-

vikling af relativt simple metoder for vektorproduktion fokuserer man i mange laboratorier lige nu på de forskellige AAV-serotyper (AAV1-8) og afledte vektorers mulighed for at overføre genmaterialet til forskellige celletyper og undslippe et AAV2-rettet immunrespons. Påviste immunologiske forskelle mellem de enkelte serotyper vil således få stor betydning for fremtidig klinisk anvendelse af AAV-vektorer.

Hybridvektorer

I forsøg på at skabe virale vektorer med et forøget klinisk potentiale har man i flere laboratorier søgt at kombinere forskellige virale vektorers bedste egenskaber i såkaldte hybridvektorer. Der har især været interesse for at omvende adenovirale vektorers manglende mulighed for at etablere et varigt genudtryk bl.a. ved udvikling af adeno-/retrovirus-hybridsystemer, der således kombinerer høj infektionseffektivitet og genekspression med indsættelse af transgenet i den inficerede celledens genom. I det nyeste eksempel på hybridvektorer opnås der vedholdende genekspression med et transposonbaseret integrationssystem, der er overført til leveren i mus via en hjælperafhængig adenoviral vektor. Som resultat af indsættelse af transposon DNA (og det indeholdte transgen) i levercellers genom opnås således et stabilt og terapeutisk niveau af koagulationsfaktor IX (11). Yderligere vektoroptimering og prækliniske forsøg med større dyr er nødvendige for at kunne vurdere disse vektorers kliniske potentiale.

Ikkevirale vektorer

I skyggen af interessen for virusbaserede vektorer vokser troen på, at syntetiske ikkevirale vektorer kan finde udbredt klinisk anvendelse. Ikkevirale vektorer i form af nøgent DNA eller DNA, der er »pakket« i en partikel af lipider eller polymerer inducerer ikke et immunrespons og er både nemmere og billigere at producere. Til gengæld har effektiviteten hidtil sjældent været sammenlignelig med virale vektorers effektivitet, primært på grund af ineffektiv transport af vektor-DNA over celle- og kernemembran, ringe celledenspecificitet, markant nedlukning af genekspression og manglende vektor-DNA-integration. Debatten om virale vektorers sikkerhed har skabt øget interesse for optimering af de ikkevirale systemer, og dele af kravene om forbedringer synes snart at kunne efterkommes. For nuværende er de mest lovende kliniske resultater opnået med DNA-vacciner i form af nøgent plasmid-DNA, der injiceres intramuskulært, og via efterfølgende proteinsyntese giver ophav til et specifikt immunrespons, eller ved injektion i muskel eller lever af DNA, der koder for et terapeutisk gen. Nøgent DNA overføres meget let til muskel- og levervæv, og manglen på celledeling i disse væv hos voksne bevirker, at DNA'et bibeholdes i cellerne i lang tid. Nedlukning af genernes udtryk forhindres ved indbygning af specielle regulerende DNA-sekvenser. Således har det f.eks. været muligt at opretholde terapeutiske niveauer i blodet af koagulationsfaktoren faktor IX i mere end 1,5 år efter blot en injektion af plasmid-DNA (12). Alternativt kan varig transgen-ekspression nu etableres ved simultan injektion af to plasmider, et plasmid, der rummer transgenet indeholdt i en DNA-transposon, og et plasmid,

der koder for et enzym, transposase, som katalyserer transgenets indsættelse et tilfældigt sted i genomet (13). Anvendelse af en integrase, der er isoleret fra bakteriofager, kan benyttes til effektiv integration af transgener i bestemte loci, en egenskab, der betydeligt forbedrer vektorernes sikkerhedsprofil. Den største udfordring for nonviral genterapi forbliver at definere og udvikle den ideelle »indpakning«, der effektivt kan styre den genetiske last til en bestemt population af celler.

Kliniske forsøg med genterapi

Af de ca. 400 kliniske protokoller, der er i gang på verdensplan, foregår hovedparten i USA. De fleste af protokollerne omhandler behandlingsforsøg med cancerpatienter, og en mindre del tilstræber behandling af monogene sygdomme som cystisk fibrose. Der er få behandlingsforsøg, hvor der er dokumenteret kliniske effekter. Den første arvelige sygdom, hvor genterapi viste kurativ effekt er en X-bundet form af arvelig immundefekt (X-SCID) (14). Behandlingen består i ex vivo-genterapi ved retroviral overførsel af en normal allel af det defekte gen til stamceller fra knoglemarven. Også en form for immundefekt, som skyldes mangel på enzymet adenosin deaminase (ADA), ser ud til at kunne blive behandlet ved lignende metoder (15). Der er publiceret effektiv behandling i pilotforsøg ved både perifer og myokardial iskæmi (16, 17). Her består behandlingen i stimulering af nydannelsen af blodkar ved intramuskulær injektion af nøgent DNA, der koder for en vækstfaktor (*vascular epithelial growth factor*, VEGF). Gennembruddet synes endvidere at være tæt på i behandlingen af arvelige hæmofilier ved brug af både virale og nonvirale genoverførselsmetoder (18, 19).

I Danmark fandt det første genterapiforsøg sted på Neurokirurgisk Afdeling, Århus Kommunehospital. Målet var behandling af ondartede hjernetumorer (glioblastom), men forsøget viste ingen effekt af behandlingen. I et andet forsøg på Kirurgisk Afdeling L, ligeledes på Århus Kommunehospital, blev patienter med tumorer i leveren forsøgt behandlet dels med adenovirale vektorer, der indeholdt normale p53-gener, dels med E1b-deleterede onkolytiske adenovirus, som selektivt replikerer i og dermed lyserer tumorceller. Heller ikke i dette projekt kunne der påvises nogen effekt. Et projekt vedrørende behandling af iskæmisk hjertesygdom er netop startet på Rigshospitalets Hjertecenter. I dette projekt foregår behandlingen ved nonviral overførsel af VEGF-gener til hjertemuskulaturen. Da de kliniske forsøg stadig foregår, er det for tidligt at vurdere behandlingsresultatet. Endelig er et forsøg på behandling af patienter med malignt melanom ved injektion af genetisk manipulerede T-celler under opstart på Onkologisk Afdeling, Århus Kommunehospital.

Perspektiver

Der er indhentet mange erfaringer som følge af de seneste ti års forsøg på at behandle patienter med genterapi. Som et resultat af at vektorerne konstant forbedres og den biologiske indsigt øges, er de første lovende resultater med klinisk genterapi nu ved at indløbe. Samtidigt vokser rækken

af nye teknikker og opdagelser med potentiel klinisk relevans. Inden for det seneste år har især RNAinterference (RNAi) vakt stor interesse. RNAi er et biologisk respons til dobbeltstrenget RNA og indebærer specifik nedbrydning af sekvenshomologt mRNA og derved nedlukning af genekspressionen. Terapeutisk dobbeltstrenget RNA, der er produceret fra overført plasmid-DNA, kan specifikt bremse genekspression hos mus (20), og RNAi tegner som et særdeles lovende våben mod bl.a. infektionssygdomme. Blandt nyskabelserne finder vi også metoder, der er baseret på overførsel af modificerede oligonukleotider, som muliggør reparation af bestemte punktmutationer, og desuden vektorsystemer, hvor aktiviteten af overførte gener nøje kan reguleres. Selv ved en sygdom som β -tallassæmi, der ellers betragtes som en af de vanskeligste sygdomme at behandle med genterapi, idet de overførte gener kun skal virke i bestemte celletyper (forstadier til røde blodlegemer) og på et kontrolleret niveau, er der lovende prækliniske resultater. Også ved insulinkrævende diabetes mellitus er der ved dyreforsøg observeret præliminære, men lovende resultater. Endelig kan vi forvente, at der bliver udviklet nye ikkeinvasive genoverførselsmetoder. Det har f.eks. vist sig muligt at overføre gener ved lokal påsmøring på huden og ved oral indtagelse af DNA i kompleks med beskyttende polymerer.

Somatisk genterapi afprøves således til behandling af en række vidt forskellige sygdomme. En vigtig erfaring, der er draget især i forbindelse med brug af genterapi til cancerbehandling, er, at dyreforsøg kun i nogen grad kan bruges til at forudse, hvad der sker, når der udføres genterapi på mennesker. For at forbedre resultaterne er det derfor nødvendigt også at udføre omhyggeligt tilrettelagte kliniske behandlingsforsøg. Disse er etisk set relativt uproblematisk, så længe det er alvorlige sygdomme, som forsøges behandlet. Anderledes forholder det sig ved forsøg på at påvirke egenskaber som muskelmasse, ydeevne eller lignende, dvs. forsøg på genetisk doping. Der foregår endvidere i adskillige laboratorier, især i USA, forsøg på udvikling af metoder til genoverførsel til fostre (in utero-genterapi). Specielt diskutabel er forsøg på bevidst manipulation af arvemassen i kønscellerne med det resultat, at de genetiske forandringer nedarves til kommende generationer.

Med den kontinuerte strøm af ny viden, resultatet af en verdensomspændende forskningsindsats på alle områder fra basal molekylærbiologi til klinisk genterapi, står det klart, at fremtidig succesfuld genterapi i udpræget grad stiller krav til samarbejde på tværs af faglige interesser. Et godt samarbejde mellem molekylærbiologer og læger er nødvendigt, ligesom interaktioner på tværs af interesse i forskellige sygdomstyper er essentielle. Hertil kommer kravet om et frugtbart samspil med den bioteknologiske industri. Set i lyset af den teknologiske udvikling tyder meget på, at genoverførsel bliver en realistisk behandlingsmetode for en række forskellige sygdomme, og at DNA derfor i høj grad bør betragtes som et af fremtidens lægemidler.

Summary

Jacob Giehm Mikkelsen & Thomas Gryesten Jensen: Progress in somatic gene therapy.

Ugeskr Læger 2003;165:908-12.

Therapeutic gene transfer may constitute an alternative to current treatments. Despite promising results from animal studies common use of genes as drugs awaits improved vector efficiency and easier large-scale vector production. New developments in the field include high-capacity vectors with low immunogenicity, hybrid vectors, site-specific vector integration, RNA interference, and efficient non-viral gene transfer. In this article, we review the recent progress in somatic gene therapy with focus on vector development and current examples of clinical efficiency.

Reprints: *Thomas G. Jensen*, Institut for Human Genetik, Aarhus Universitet, DK-8000 Århus C. E-mail: thomas@humgen.au.dk

Antaget den 15. januar 2003.

Stanford University School of Medicine, USA, Departments of Pediatrics and Genetics, og Aarhus Universitet, Institut for Human Genetik.

Litteratur

1. www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/august 2002.
2. www4.od.nih.gov/oba/rac/clinicaltrial.htm/august 2002.
3. The Journal of Gene medicine: gene therapy clinical trials. www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/august 2002.
4. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41-9.
5. Simonsen JL, Rosada C, Serakinci N et al. Telomerase expression extends the proliferative life-span and maintains the osteogenic potential of human bone marrow stromal cells. *Nat Biotech* 2002;20:592-6.
6. Naldini L, Blomer U, Gallay P et al. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 1996;272:263-7.
7. Kafri T, Blomer U, Peterson DA et al. Sustained expression of genes delivered directly into liver and muscle by lentiviral vectors. *Nat Genet* 1997;17:314-7.
8. An DS, Kung SK, Bonifacino A et al. Lentivirus vector-mediated hematopoietic stem cell gene transfer of common gamma-chain cytokine receptor in rhesus macaques. *J Virol* 2001;75:3547-55.
9. Podsakoff GM. Lentiviral vectors approach the clinic but fall back: National Institutes of Health Recombinant DNA Advisory Committee review of a first clinical protocol for use of a lentiviral vector. *Mol Ther* 2001;4:282-3.
10. Hariharan MJ, Rahman A, Podar EM et al. Transgene expression in the presence of anti-vector antibodies and re-administration of a helper dependent adenoviral vector with immune modulation. *Mol Ther* 2002;5:S90.
11. Yant SR, Ehrhardt A, Mikkelsen JG et al. Transposition from a gutless adeno-transposon vector stabilizes transgene expression in vivo. *Nature Biotech* 2002;20:999-1005.
12. Miao CH, Thompson AR, Loeb K et al. Long-term and therapeutic-level hepatic gene expression of human factor IX after naked plasmid transfer in vivo. *Mol Ther* 2001;3:947-57.
13. Yant SR, Meuse L, Chiu W et al. Somatic integration and long-term transgene expression in normal and haemophilic mice using a DNA transposon system. *Nat Genet* 2000;25:35-41.
14. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000;288:669-72.
15. Aiuti A, Slavin S, Aker M et al. Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with nonmyeloablative conditioning. *Science* 2002;296:2410-3.
16. Baumgartner I, Pieczek A, Manor O et al. Constitutive expression of phVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1998;97:1114-23.
17. Losordo DW, Vale PR, Hendel RC et al. Phase 1/2 placebo-controlled, double-blind, dose-escalating trial of myocardial vascular endothelial

growth factor 2 gene transfer by catheter delivery in patients with chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2002;105:2012-8.

18. Kay MA, Manno CS, Ragni MV et al. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 2000;24:257-61.

19. Roth DA, Tawa NE Jr, O'Brien JM et al. Nonviral transfer of the gene encoding coagulation factor VIII in patients with severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2001;344:1735-42.

20. McCaffrey AP, Meuse L, Pham TT et al. RNA interference in adult mice. *Nature* 2002;418:38-9.

»Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator« (CFTR)-genet: mutationer og kliniske fænotyper

OVERSIGTSARTIKEL

Lic.scient. Marianne Schwartz

Resumé

Cystisk fibrose (CF) skyldes mutationer i genet CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*). CF er karakteriseret ved hyppige lungeinfektioner, nedsat lungefunktion, pancreasinsufficiens og hos mænd manglende sædledere. Mutationer i CFTR forekommer desuden sammen med en række isolerede, CF-relaterede symptomer, f.eks. kronisk lungesygdom, medfødt dobbeltsidig manglende sædledere (*congenital bilateral absence of the vas deferens* [CBAVD]), pancreatitis og asthma. Patienter med disse sygdomme har en højere hyppighed af CFTR-mutationer end normalbefolkningen. Det er ofte mutationer, der ikke ses hos patienter med CF, og som derfor hører til de milde CFTR-mutationer. En af disse mutationer (IVS8-5T) har vist sig at være hyppig hos patienter med CF-relaterede sygdomme, specielt patienter med CBAVD. Et fund af en CFTR-mutation hos en person bør give anledning til et tilbud om genetisk rådgivning og mutationsanalyse, til relevante familiemedlemmer.

Cystisk fibrose (CF) skyldes mutationer i *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR)-genet, der koder for en cAMP-reguleret kloridkanal. CF er karakteriseret ved hyppige lungeinfektioner, nedsat lungefunktion, pancreasinsufficiens og, hos mænd, manglende sædledere (1). Diagnosen af sygdommen, i dens klassiske form, stilles normalt tidligt, ved klinik, svedtest og mutationsanalyse, i henhold til en række konsensuskriterier (2). CF er en af de hyppigste, alvorlige arvelige sygdomme i vestlige befolkningsgrupper. Hyppigheden af CF blandt nyfødte i Danmark er 1:4.700, med en anlægshyppighed på 3%. På verdensplan varierer hyppigheden stærkt mellem befolkningsgrupper (Tabel 1); således er den blandt asiater, inkl. inuitter, nær nul, mens den på Færøerne er næsten dobbelt så høj som i Danmark (3-5).

CF er en multiorgansygdom, og kendskabet til de sygdomsfremkaldende mutationer har medført, at man har undersøgt patienter med isolerede, CF-relaterede symptomer

Tabel 1. Incidensen af CF i forskellige lande, hyppigheden af F508del og af den næsthyppigste mutation fundet i disse lande. Bemærk at de nordiske lande har forskellig incidens af CF, men samme »nordiske« mutation som næsthyppigste mutation.

Land	Incidens	Hyppighed af F508del %	Næsthyppigste mutation (hyppighed i %)
Danmark	1:4.700	87	394delTT (1,6)
Sverige	1:7.300	67	394delTT (7,3)
Norge	1:4.500	60	394delTT (4,2)
Færøerne	1:2.000	100	
Finland	1:25.000	46	394delTT (29)
Storbritannien	1:2.600	75	G551D (3,1)
Tyskland	1:3.300	72	R553X (2)
USA ^a	1:2.500	68	G542X (2,4)
Asien	<1:90.000		

a) Europæisk afstamning.

for CFTR-mutationer. Det drejer sig om fx kronisk lungesygdom, medfødt manglende sædledere (*congenital bilateral absence of the vas deferens* [CBAVD]), pancreatitis og asthma. Resultatet er ikke entydigt, men en lang række undersøgelser peger på, at mutationer i CFTR er medvirkende årsag til en række af disse sygdomme, uden at der er tale om en klar genotype-fænotype-sammenhæng.

I denne artikel vil der blive fokuseret på en karakterisering af CFTR-mutationer og deres betydning for såvel klassiske som ikkeklassiske CF-fænotyper.

Genet

CFTR blev klonet i 1989 (6). Genet sidder på kromosom nr. 7 (7q31) og er ca. 250.000 basepar (bp) stort. Den proteinkodende del er fordelt på 27 exoner, med i alt 6.500 bp.

Proteinet

CFTR koder for et membranprotein, som dels fungerer som en kloridkanal, dels som regulator af andre ionkanaler. Proteinet er et enkelt polypeptid på 1.480 aminosyrer med to transmembrane domæner (TMD), to nukleotidbindende domæner (NBD), der binder og hydrolyserer ATP, samt et regulatorisk domæne (R) (Fig. 1). Det modne CFTR-protein er glykosyleret og fungerer som en cAMP/proteinkinase A-reguleret kloridkanal i epitelcellers apikale membran (7).