

Statusartikel

Ugeskr Læger 2020;182:V06200458

Behandling af monogene sygdomme ved viral transduktion af hæmatopoietiske stamceller

Marianne Segelcke Ifversen¹, Tania Nicole Masmás¹, Brian Kornblit², Klaus Rieneck³, Eva Kannik Kaastrup³, Allan Meldgaard Lund⁴, Anne Fischer-Nielsen⁵ & Andreas Glenthøj⁶

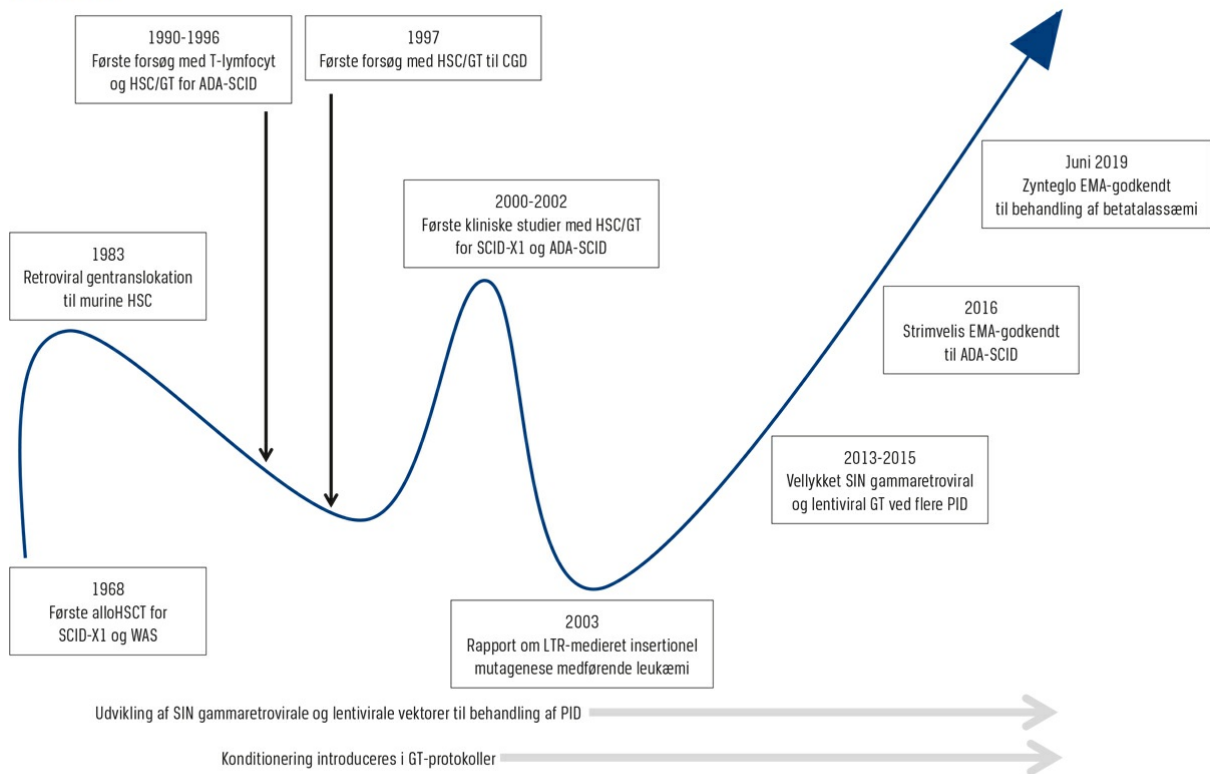
1) BørneUngeKlinikken, Rigshospitalet, 2) Hæmatologisk Klinik, Rigshospitalet, 3) Blodbanken, Klinisk Immunologisk Afdeling, Rigshospitalet, 4) Center for Medfødte Stofskiftesygdomme, Rigshospitalet, 5) Stamcellesektionen, Blodbanken, Rigshospitalet, 6) Videnscenter for Hæmoglobinsygdomme, Afdeling for Blodsygdomme, Herlev Hospital

Ugeskr Læger 2020;182:V06200458

Hovedbudskaber

- Behandling af monogene sygdomme er ofte utilstrækkelig pga. manglende effektivitet eller høj toksicitet.
- Genterapi med lentiviral transduktion af blodstamceller (HSC/GT) er et lovende behandlingsprincip.
- Principperne for behandling med kommercielt fremstillede HSC/GT er nye i Danmark.

En række klinisk forskellige sygdomme skyldes mangelfuld ekspresion af et essentielt gen udtrykt i blodceller. Svær kombineret immundefekt (SCID) er ofte letal inden for få levemåned, mens f.eks. talassæmi medfører betydelig morbiditet og forkortet levetid [1]. Allogen hæmatopoietisk stamcelletransplantation (alloHSCT) er guldstandard ved SCID [2], idet patienterne bliver i stand til livslangt at danne raske T-lymfocytter. AlloHSCT indebærer en risiko for transplantationsrelateret sygdom og evt. død, især pga. graft versus host disease, hvorfor ex vivo-genmanipulation af autologe blodceller (hæmatopoietiske stamceller/genterapi (HSC/GT)) mhp. korrigeret proteinekspresion har været genstand for intens forskning siden de første humane studier i 1990'erne, initialt ved adenosindeaminasedefekt-SCID (ADA-SCID) [3] og siden X-linked-SCID (SCID-X1) [4]. Behandlingen, hvor man benyttede førstegenerations-gamma-retrovirale vektorer var effektiv, idet patienterne opnåede T-celleimmunitet, men programmerne blev stoppet pga. de novo-T-celle akut lymfoblastisk leukæmi hos fem ud af 20 patienter [5, 6]. Tilsvarende høj incidens af leukæmi fandtes i andre GT-serier [7]. Forbedrede gammavektorer og udvikling af lentivirale vektorer har medført højere transduktionseffektivitet og lavere leukæmirisiko, mens forbehandling (konditionering) med alkylende stoffer sikrer bedre engraftment og proliferation af effektorceller. I 2016 blev Strimvelis godkendt af European Medicines Agency (EMA) som det første ex vivo-transducerede lægemiddel (ADA-SCID) (Figur 1). Siden da har cellebaseret GT fået et gennembrud med chimeric antigen receptor T-cell-behandling, hvor patientens egne T-celler genmodificeres til at angribe tumorceller [9, 10]. I disse år udvikles der mange nye lægemidler, som er baseret på GT, inklusive korrektion af medfødte patogene genvarianter i blodstamceller, og formålet med denne artikel er at formidle de overordnede kliniske aspekter ved denne type GT.

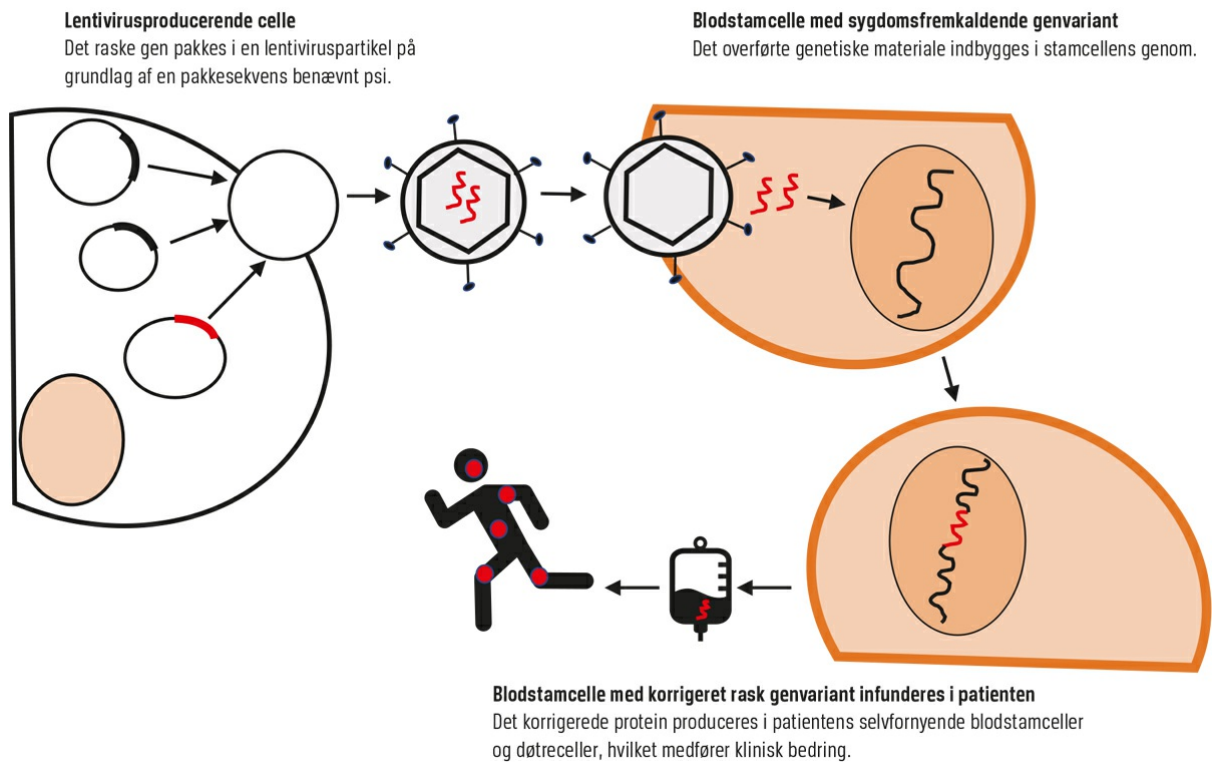
FIGUR 1 / Historisk udvikling af behandling med HSC/GT. Den blå linje illustrerer udviklingsmæssige frem- og tilbageskridt. Figuren er adapteret fra [8].

ADA = adenosindeaminasedefekt; AlloHSC = allogen hæmatopoietisk stamcelletransplantation; CGD = kronisk granulomatøs sygdom; EMA = European Medicines Agency; GT = genterapi; HSC = hæmatopoietiske stamceller; LTR = long terminal repeat; PID = primær immundefekt; SCID = svær kombineret immundefekt; SIN = ikkegenaktiverende.

TRANSDUKTION

Ved GT med HSC overføres det raske gen vha. en lentoviral vektor (**Figur 2**). På hver side af det korrigerede gen findes en long terminal repeat (LTR)-sekvens, som er nødvendig, for at det raske gen kan blive indsat i stamcellens DNA mhp. varig ekspression. Viruspartikler med det korrigerede gen blandes herefter med patientens HSC, hvorved det raske gen indføres et tilfældigt sted i stamcellens DNA og nedarves til efterfølgende generationer af celler, der herved bliver i stand til at producere det korrigerede genprodukt [11].

I de lentivirale vektorer der bruges i dag, er 3' LTR muteret for at hindre uønsket genaktivering ved insertionel promoteraktivitet i modsætning til de gammaretrovirale vektorer, der anvendtes i de tidlige studier med høj forekomst af leukæmi [5, 12]. Nyere teknikker heriblandt geneditering, hvis formål er at reparere den sygdomsfremkaldende genvariant, har stort potentiale. Et eksempel er CRISPR/Cas9-teknologien, hvor en eller få baser kan korrigeres, uden at genets regulatoriske kontekst berøres. Prækliniske forsøg har vist lovende resultater, og de første kliniske protokoller afventes [13-15].

FIGUR 2 / Princip for ex vivo-transduktion ved lentiviral vektor.

INDIKATIONER

Et stigende antal sygdomme forventes at være tilgængelige for HSC/GT i de kommende år (Tabel 1).

Hæmoglobinopatier

På verdensplan fødes der årligt > 300.000 børn med alvorlig hæmoglobinopati såsom seglcelleanæmi (SCD) og transfusionskrævende β -talassæmi (TDT) [21]. Begge er recessivt nedarvede sygdomme i β -globingenet. TDT skyldes utilstrækkelig mængde β -globin, hvilket medfører anæmi fra tidlig barndom, mens SCD skyldes en bestemt aminosyresubstitution, som bevirker polymerisering af hæmoglobin, dannelse af seglceller og smertefulde vasookklusioner. Ubehandlet er begge sygdomme dødelige i barndommen, men støttebehandling i form af bl.a. transfusioner og jernkelering kan – dog ofte med talrige komplikationer og nedsat livskvalitet – forlænge livslængden med flere årtier [22]. Hidtil var alloHSCT den eneste kurative behandling.

Betibeglogen autotemcel er den første EMA-godkendte GT til β -talassæmi, og ansøgning om start på behandlingen i Danmark forventes at blive behandlet i Medicinrådet i løbet af 2020. Betibeglogen autotemcel består af patientens egne HSC, der via et lentivirus er transduceret med raskt β -globin, hvorved > 80% af patienterne forventes at blive transfusionsfri [11]. Andre GT'er er i pipelinen, bl.a. lentivira med β -globin samt CRISPR/CAS9-baseret knockout af *BCL11A*, hvilket reinducerer føtalt gamma-globin som erstatning for β -globin. Ovennævnte GT'er testes også til behandling af seglcelleanæmi, hvor rask β -globin eller gamma-globin effektivt hindrer polymerisering af seglcellehæmoglobin og derved funktionelt kurerer patienterne.

TABEL 1 / Monogene sygdomme, som er korrigerbare ved genterapi af blodstamceller.

Sygdom	Gen	Reference
<i>Primær immundefekt-sygdomme</i>		
ADA-SCID	<i>ADA</i>	[3, 16]
SCID-X1	<i>IL2RG</i>	[4, 17]
Artemis-SCID	<i>DCLRE1C</i>	- ^a
Kronisk granulomatøs sygdom	<i>CYBB</i>	[18]
Wiskott-Aldrichs syndrom	<i>WAS</i>	[7]
Leukocytadhæsiionsdefekt	<i>ITGB2</i>	- ^a
Hæmfagocyterende lymfohistiocytose	<i>UNC13D, PRF1</i>	- ^a
X-bunden lymfoproliferativ sygdom	<i>SH2D1A</i>	- ^a
Hyper-IgM-syndrom	<i>CD40LG</i>	- ^a
<i>Hæmoglobinopatier</i>		
Seglcelleanæmi	<i>HBB</i>	- ^a
β-talassæmi	<i>HBB</i>	[11]
<i>Andre blodsygdomme</i>		
Fanconis anæmi	<i>FANCA</i>	[13]
<i>Metaboliske sygdomme</i>		
Mukopolysakkaridose type I-H, III og VII	<i>IDUA</i>	[19]
X-bunden adrenoleukodystrofi	<i>ABCD1</i>	[20]
Metakromatisk leukodystrofi	<i>ARSA</i>	[20]

ADA = adenosindeaminasedefekt; SCID = svær kombineret immundefekt; SCID-X1= X-linked-SCID.

a) Endnu ikke publicerede kliniske studier, men eksperimentelle studier er undervejs.

PRIMÆR IMMUNDEFEKT

Primær immundefekt (PID) inkluderer en heterogen gruppe af oftest monogene sygdomme, der ud over SCID omfatter > 300 sygdomsenheder med varierende grad af immundefekt. Over 150 patienter med PID (primært SCID) er til dato behandlet med HSC/GT. De hidtil bedste resultater er opnået med lentivirale vektorer og konditionering med reduceret intensitet. Der er for nuværende åbne protokoller for en række sygdomme, mens andre endnu er i prækliniske faser (Tabel 1).

Adenosindeaminasedefekt-svær kombineret immundefekt

Ved ADA-SCID medfører akkumulation af toksiske metabolitter letal lymfopeni og i variabel grad anden organskade. Der rapporteres om 100% overlevelse og permanent engraftment af genetisk korrigerede celler hos > 75% efter nonmyeloablative konditionering (busulfan) [15, 16]. Derudover er det rapporteret, at pegademase bovin (PEG)-ADA temporært efter HSC/GT kan forbedre det immunologiske mikromiljø for det korrigerede produkt, ligesom PEG-ADA anvendes som bridging inden HSC/GT [15, 16].

X-linked svær kombineret immundefekt

Ved SCID-X1 medfører en patogen variant i *IL2RG* defekt eksplosion af common gamma chain, hvilket fører til mangel på T- og natural killer-celler. HSC/GT med lentiviral vektor medførte effektiv T-cellerkonstitution, ophør af infektioner med få akutte bivirkninger hos otte ud af otte patienter, og uden at de fik leukæmogenese, dog med kort opfølgningstid [17].

Kronisk granulomatøs sygdom

Kronisk granulomatøs sygdom (CGD) er forårsaget af en variant i et af fem kendte gener og medfører defekt neutrocytmedieret fagocytose. Partiel korrektion af genet anses for at være sufficient, og hos seks ud af syv patienter kunne der i en nyligt publiceret serie opnås korrektion af fagocytosedefekten, mens to patienter døde pga. infektioner inden rekonstitution af de korrigerede HSC. Konditionering med myeloablative doser af busulfan er formentlig nødvendigt [18].

Wiskott-Aldrichs syndrom

Wiskott-Aldrichs syndrom er forårsaget af en variant i det X-bundne *WAS*-gen og er karakteriseret ved autoimmunitet, blødning pga. mikrotrombocytopeni og øget malignitetsrisiko. Mere end 20 patienter er behandlet med lentivirale vektorer forudgået af nonmyeloablative konditionering, hvilket har resulteret i stabil engraftment af korrigerede celler og T-cellerkonstitution med regression af autoimmunitet, men fortsat risiko for trombocytopeni [7, 8].

METABOLISKE SYGDOMME

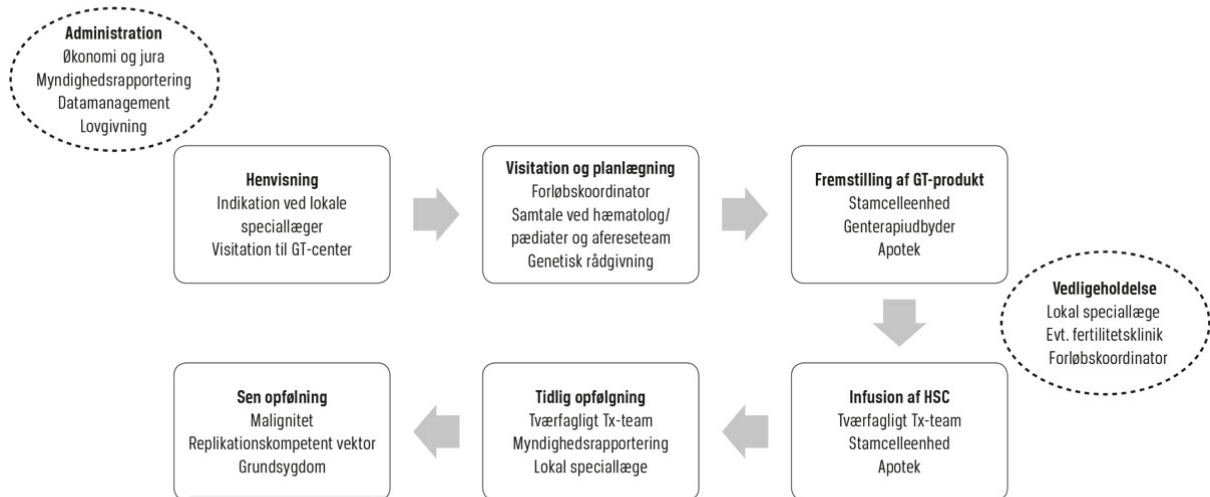
Inborn errors i lysosomer og peroxisomale enzymer fører til en række heterogene sygdomme, som er karakteriseret ved ophobning af celledetoksisk materiale, hvilket medfører organskade, herunder ofte svær affektion af centralnervesystemet (CNS). Enzymerstatningsterapi eller alloHSCT er aktuelle behandlingstilbud ved tidlig diagnose. Langsomt og utilstrækkeligt respons begrænser imidlertid de nuværende behandlingsmodaliteter især over for progredierende CNS-skade. HSC/GT har vist sig at være effektiv og sikker ved en del af disse sygdomme primært i prækliniske modeller, men også i humane studier [19]. Protokoller med lentiviral vektor har vist lovende resultater ved mukopolysakkaridose type 1, metakromatisk leukodystrofi (MLD) og X-bunden adrenoleukodystrofi med en formentlig fordelagtig overekspression af det modificerede gen [19, 20, 24]. En udfordring ved de neurodegenerative sygdomme er den ringe permeabilitet af blod-hjerne-barrieren for de GT-modificerede stamceller, hvilket kan forsøges imødekommet ved intratekal injektion af genproduktet ved bl.a. MLD [19].

PATIENTFLOW OG BEHANDLING

Behandling med HSC/GT for hæmoglobinopati, PID og metaboliske sygdomme er i skrivende stund planlagt centraliseret på Rigshospitalet og forankret i enhederne for alloHSCT. Patienter med indikation for HSC/GT identificeres på regionale afdelinger og henvises til visitationsudvalget, hvor endelig vurdering afgør patienternes egnethed til at gennemgå behandlingen (Figur 3). Behandlingsforløbet indledes med høst af patientens egne mobiliserede HSC ved en leukaferese og efterfølgende genmodifikation som beskrevet ovenfor, en proces der tager 4-6 uger. Leukaferesen gennemføres på et afereseinstrument, hvor blod via et venekateter trækkes fra patienten til en centrifuge, cellerne separeres, og primært de mononukleære celler inkl. stamceller opsamles, mens resten af blodet returneres til patienten. Det høstede produkt sendes ubehandlet videre til genmodificering, oftest i udlandet, og det færdige produkt modtages som et lægemiddel og opbevares ved -196 °C, indtil patienten er klar til reinfusion. Eftersom det færdige produkt er genmodificeret (GMO), er der en række

regulatoriske forhold, der skal sikres at være opfyldt under Arbejdstilsynets opsyn.

FIGUR 3 / Patientflow, logistik og planlægning.



GT = genterapi; HSC = hæmatopoietisk stamcelle; Tx = transplantation.

For at forebygge afstødning af de genmodificerede celler forbehandles patienterne med alkylende kemoterapi (ofte busulfan) 4-7 dage forud for reinfusion. Dosis vil afhængigt af grundsygdom være myeloablativ eller nonmyeloablativ. Patienterne vil under behandlingen enten være indlagt (fortrinsvis børn < 18 år) eller blive fulgt tæt med daglige ambulante kontroller, indtil knoglemarvsfunktionen er reetableret efter 2-4 uger. Akutte bivirkninger i forbindelse med kemoterapi såsom hårtab, opkastninger, knoglemarvspåvirkning og i begrænset omfang venookklusiv sygdom vil være forventelige, sidstnævnte især ved myeloablativ dosis af busulfan [11]. Langtidsfølger vil ligeledes forventeligt skyldes kemoterapien snarere end GT-produktet. Behandlingsrelateret mortalitet (TRM) på 3-5% og senfølger efter busulfanbehandling i form af alopeci, sekundær malignitet, gonadal hypofunktion/infertilitet og endokrinopati er kendt fra kombination med anden alkylende behandling ved autolog HSCT [25-27]. Trods hidtil sparsomme data forventes der lavere TRM efter HSC/GT pga. lavere kemoterapidoser og medianalder samt mindre komorbiditet end ved autolog HSCT. Langtidsopfølgning i minimum 15 år efter GT er et myndighedskrav pga. risiko for malignitet og transformation af virusvektor.

AFRUNDING

Klinisk implementering af HSC/GT er yderst kompleks pga. samtidig involvering af mange tværgående specialer og høje myndighedskrav. Mens vanlige celleprodukter til HSCT reguleres under vævsloven, klassificeres cellulære GMO-produkter som lægemidler, såkaldt advanced therapy medicinal products og reguleres under lægemiddelloven. Donation, udtagning og testning af leukafereproduktet reguleres dog af vævsloven. Det genmodificerede produkt som markedsført lægemiddel skal modtages, opbevares og udleveres under Apotekets regler for god fremstillingspraksis og god distributionspraksis. Opbevaringstank og sengestuer mv. skal særligt mærkes og godkendes af Arbejdstilsynet.

Før Medicinrådet kan behandle en ansøgning om ny EMA-godkendt GT, skal der være godkendt mindst ét dansk behandlingscenter. Denne godkendelsesproces er ressourcekrævende og mangler standardisering, hvorfor teknisk ensartede behandlinger indtil videre skal godkendes hver for sig. Processen forudsætter et tæt samarbejde mellem den kliniske afdeling, stamcellelaboratoriet og apoteket, der alle skal akkrediteres til formålet. Der er således store ressourcer forbundet med implementeringen af HSC/GT, der fordrer en bred og helst gennearbejdet organisationsstruktur [28]. Priserne for de enkelte GT-produkter forventes at være høje,

hvilket skal sammenholdes med udgifter til livslang behandling med eksempelvis blodtransfusion, kelerende lægemidler eller alloHSCT og mulige senfølger hertil. I et engelsk studie fandt man, økonomien ved HSC/GT var bedre end ved alloHSCT [29]; forhold, der ligeledes ventes fulgt tæt i dansk kontekst når behandlingen er implementeret.

KORRESPONDANCE: *Marianne Segelcke Ifversen*. E-mail: Marianne.Ifversen@regionh.dk

ANTAGET: 8. september 2020

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 9. november 2020

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR: Findes i artiklen publiceret på Ugeskriftet.dk

SUMMARY

Treatment of monogenic disorders with viral transduced haematopoietic stem cells

Marianne Segelcke Ifversen, Tania Nicole Masmias, Brian Kornblit, Klaus Rieneck, Eva Kannik Kaastrup, Allan Meldgaard Lund, Anne Fischer-Nielsen & Andreas Glenthøj

Ugeskr Læger 2020;182:V06200458

Infusion of ex vivo transduced haematopoietic stem cells (HSC) has emerged as a promising new treatment of certain monogenetic disorders. Since early clinical studies on patients with severe combined immune deficiency were halted due to de novo leukaemia, the technology has matured. Thus, treatment of transfusion-dependent thalassaemia and adenosine deaminase deficient severe combined immunodeficiency by using lentiviral vectors for gene correction of autologous HSC can induce expression of the deficient protein and thus potentially cure the patients. The review summarises recent advances allowing for clinical implementation of the treatment in Denmark.

LITTERATUR

1. Ladis V, Chouliaras G, Berdoukas V et al. Survival in a large cohort of Greek patients with transfusion-dependent beta thalassaemia and mortality ratios compared to the general population. *Eur J Haematol* 2011;86:332-8.
2. Pai SY, Logan BR, Griffith LM et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009. *New Engl J Med* 2014;371:434-46.
3. Blaese RM, Culver KW, Miller AD et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 1995;270:475-80.
4. 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.
5. Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest* 2008;118:3132-42.
6. Howe SJ, Mansour MR, Schwarzwaelder K et al. Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients. *J Clin Invest* 2008;118:3143-50.
7. Braun CJ, Witzel M, Paruzynski A et al. Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome – long-term reconstitution and clinical benefits, but increased risk for leukemogenesis. *Rare Dis* 2014;2:e947749.
8. Thrasher AJ, Williams DA. Evolving gene therapy in primary immunodeficiency. *Mol Ther* 2017;25:1132-41.
9. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *New Engl J Med* 2018;378:439-48.
10. Müller K, Ifversen M, Kielsen K et al. Chimeric antigen receptor-T-cellebehandling. *Ugeskr Læger* 2019;181:V05190309.

11. Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J et al. Gene therapy in patients with transfusion-dependent beta-thalassemia. *New Engl J Med* 2018;378:1479-93.
12. Gaspar HB, Parsley KL, Howe S et al. Gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency by use of a pseudotyped gammaretroviral vector. *Lancet* 2004;364:2181-7.
13. Kohn DB. Gene therapy for blood diseases. *Curr Opin Biotechnol* 2019;60: 39-45.
14. Booth C, Romano R, Roncarolo MG, Thrasher AJ. Gene therapy for primary immunodeficiency. *Hum Mol Genet* 2019;28:R15-R23.
15. Ghosh S, Gaspar HB. Gene therapy approaches to immunodeficiency. *Hematol Oncol Clin North Am* 2017;31:823-34.
16. Cicalese MP, Ferrua F, Castagnaro L et al. Update on the safety and efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *Blood* 2016;128:45-54.
17. Mamcarz E, Zhou S, Lockey T et al. Lentiviral gene therapy combined with low-dose Busulfan in infants with SCID-X1. *New Engl J Med* 2019;380): 1525-34.
18. Kohn DB, Booth C, Kang EM et al. Lentiviral gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease. *Nat Med* 2020;26:200-6.
19. Penati R, Fumagalli F, Calbi V et al. Gene therapy for lysosomal storage disorders: recent advances for metachromatic leukodystrophy and mucopolysaccharidosis I. *J Inherit Metab Dis* 2017;40:543-54.
20. Eichler F, Duncan C, Musolino PL et al. Hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy. *New Engl J Med* 2017;377: 1630-8.
21. Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:1-14.
22. Locatelli F, Kabbara N, Ruggeri A et al. Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling. *Blood* 2013;122:1072-8.
23. Andrews JC, Schunemann HJ, Oxman AD et al. GRADE guidelines: 15. Going from evidence to recommendation-determinants of a recommendation's direction and strength. *J Clin Epidemiol* 2013;66:726-35
24. Mallack EJ, Turk B, Yan H, Eichler FS. The landscape of hematopoietic stem cell transplant and gene therapy for X-linked adrenoleukodystrophy. *Curr Treat Options Neurol* 2019;21:61.
25. Sorrow ML, Logan BR, Zhu X et al. Prospective Validation of the Predictive Power of the Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research Study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1479-87.
26. Ladenstein R, Potschger U, Pearson ADJ et al. Busulfan and melphalan versus carboplatin, etoposide, and melphalan as high-dose chemotherapy for high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): an international, randomised, multi-arm, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18:500-14.
27. Bresters D, van Gils IC, Kollen WJ et al. High burden of late effects after haematopoietic stem cell transplantation in childhood: a single-centre study. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:79-85.
28. Perica K, Curran KJ, Brentjens RJ, Giralt SA. Building a CAR garage: preparing for the delivery of commercial CAR T cell products at Memorial Sloan Kettering Cancer Center. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018;24:1135-41.
29. South E, Cox E, Meader N et al. Strimvelis® for treating severe combined immunodeficiency caused by adenosine deaminase deficiency: an evidence review group perspective of a NICE highly specialised technology evaluation. *Pharmacoecoon Open* 2019;3:151-61.