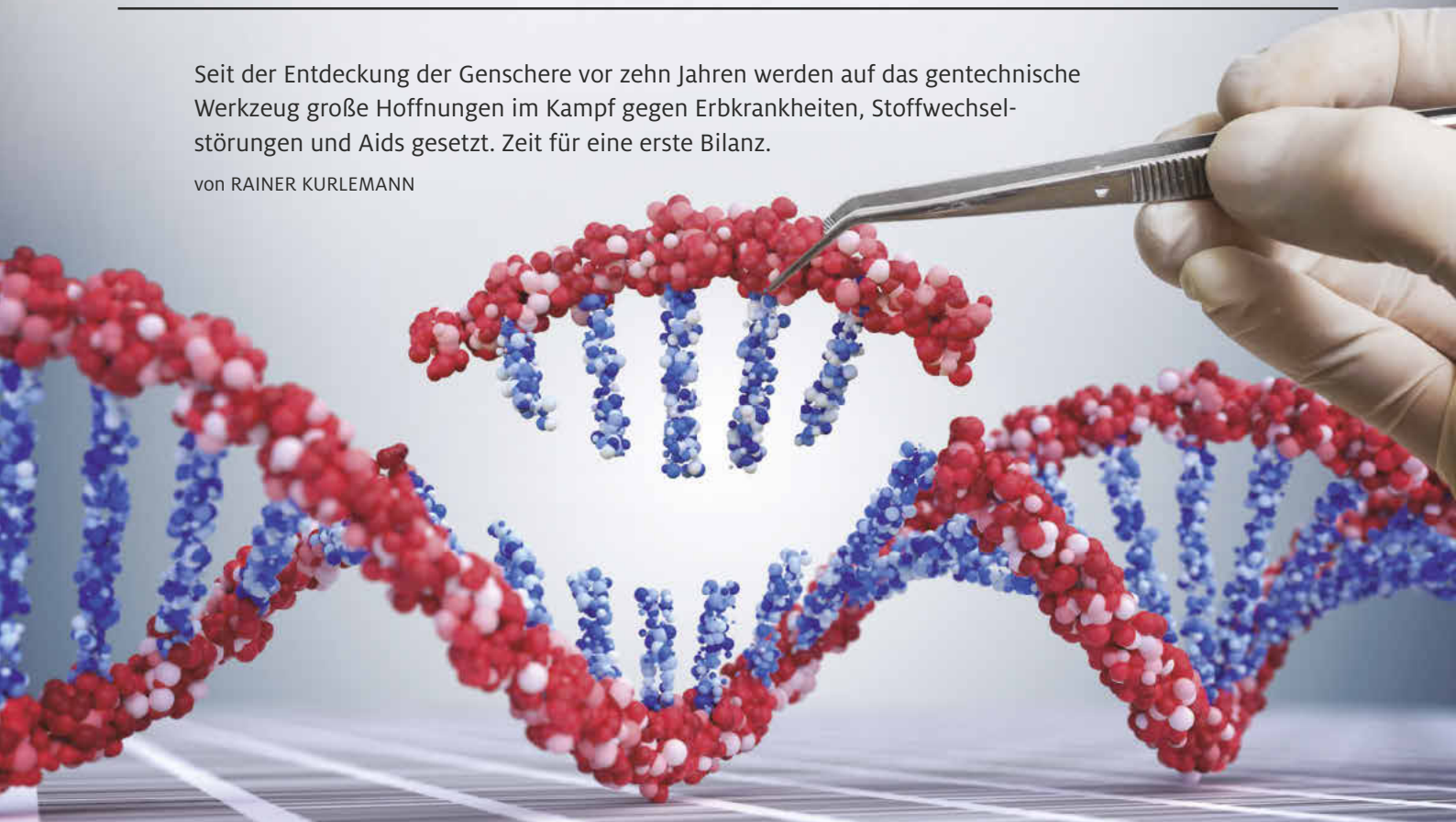


# CRISPR/Cas im Praxistest

Seit der Entdeckung der Genschere vor zehn Jahren werden auf das gentechnische Werkzeug große Hoffnungen im Kampf gegen Erbkrankheiten, Stoffwechselstörungen und Aids gesetzt. Zeit für eine erste Bilanz.

von RAINER KURLEMANN



**D**ie US-Amerikanerin Victoria Gray ist vermutlich die erste Frau, die mithilfe einer gezielten gentechnischen Veränderung an ihren Zellen von einer Krankheit genesen ist. Sie litt seit ihrer Geburt an Sichelzellenanämie. Die Erkrankung entsteht durch einen Gendefekt in den blutbildenden Stammzellen, er verändert die roten Blutkörperchen. Gray hatte immer wieder heftige Schmerzattacken und war körperlich stark eingeschränkt, weil ihr Blut nicht genug Sauerstoff aufnehmen konnte. Doch seit Juli 2019 benötigt sie keine Bluttransfusionen mehr. „Es ist großartig! Mein Leben hat sich völlig verändert!“, berichtete sie Ende letzten Jahres in einem Radio-Interview.

Victoria Gray profitiert von einem neuen Werkzeug mit dem umständlichen Namen CRISPR/Cas9 zur Behandlung von Krankheiten, die durch Defekte im Erbgut entstehen. Die Entdeckung dieser Genschere wurde 2020 mit dem Chemie-Nobelpreis ausgezeichnet. Sie ermöglicht den gezielten Eingriff in die DNA einer Zelle. Gene können damit verändert, ein-

oder ausgeschaltet werden. Diese vielseitigen Möglichkeiten machen das Konzept der Gentherapie immer populärer.

Die ersten Gentherapien – damals noch ohne „Schere“ – haben Ärzte in den 1990er-Jahren angewendet (bild der wissenschaft 5/2020, „Das Wunderwerkzeug der Biologen“). Bei den ersten Versuchen schleusten sie ein funktionstüchtiges Gen mit einem Virus in die Zellen der Patienten ein. Es sollte dort die Aufgaben des defekten Gens übernehmen. Die Mediziner konnten aber nicht beeinflussen, wie das neue Gen eingebaut und verwendet wird. Deshalb hatte eine Gentherapie oft Nebenwirkungen. Mit CRISPR und Cas-Proteinen lassen sich Eingriffe nun gezielt steuern.

## KOMPAKT

- CRISPR/Cas wird an Zellen im Labor und auch direkt im Körper angewendet.
- Vor dem Einsatz wird geprüft, wie präzise die Genschere schneidet.
- Gentherapien können gegen Krankheiten helfen, für die es bislang keine Behandlung gab.

**WISSEN**

Victoria Gray ist die erste Sichelzellenanämie-Patientin, die Haydar Frangoul (links) mithilfe einer CRISPR/Cas9-Gentherapie behandelt hat.

Bei Victoria Gray hat CRISPR/Cas9 funktioniert. Ein Ärzteteam einer Klinik in Nashville im US-Bundesstaat Tennessee entnahm die defekten blutbildenden Stammzellen aus ihrem Rückenmark und reparierte im Labor den Fehler im Erbgut. Nach der Korrektur schleusten die Forscher die Zellen zurück ins Rückenmark, wo sie sich einnisteten und seither gesunde Blutkörperchen produzieren. Die Therapie hat den Gendefekt genau genommen nicht behoben, sondern die stillgelegte Funktion anderer Zellen eingeschaltet. Die Zellen bilden jetzt fetales Hämoglobin wie ein Embryo in der Schwangerschaft. Etwa ein Drittel von Grays roten Blutkörperchen entsprechen denen eines Neugeborenen. Für die Patientin ist das ein Vorteil, denn fetales Hämoglobin speichert Sauerstoff besser.

Und das ist kein Einzelfall: Das Ärzteteam um den US-Mediziner Haydar Frangoul berichtete Ende 2020 im Fachmagazin *New England Journal of Medicine* über eine andere Patientin, deren Bluterkrankung Beta-Thalassämie ebenfalls mit CRISPR/Cas behandelt wurde. Die Frau wird am Universitätsklinikum Regensburg betreut und lebt bereits seit dem Frühjahr 2019 ohne die Symptome ihrer Krankheit.

Die bayerische Klinik ist das deutsche Zentrum für Patienten mit genetisch bedingten Bluterkrankungen. „Bei Sichelzellenanämie und Beta-Thalassämie sind Gentherapien ein riesiger und wichtiger

Schritt, weil wir nur selten Knochenmarkspender finden und die konventionelle Therapie die Krankheit kaum aufhalten kann“, sagt Chefarzt Selim Corbacioglu. Die Lebenserwartung der Betroffenen liegt 20 Jahre unter dem Durchschnitt. Der körperliche Verfall und die Schmerzen schränken die Patienten sehr stark ein. Die Therapie kostet etwa zwei Millionen Euro. „Die Anwendung ist besonders bei jüngeren Patienten sinnvoll, die danach ein ganz anderes Leben führen können“, sagt Corbacioglu. Er behandelt mittlerweile vier Menschen mit Gentherapie, Haydar Frangoul betreut zwölf Fälle. Die Zellen der Regensburger Patienten werden für die Genveränderung an ein Speziallabor in den USA geschickt.

### 20 Milliarden US-Dollar Fördermittel

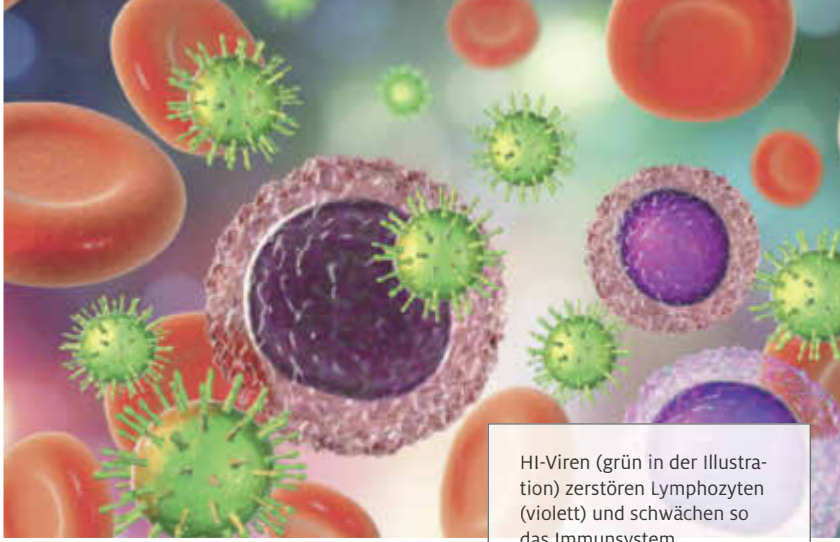
Die Gentherapie erlebt einen großen Aufschwung. Die Behörden in den USA haben 2019 bereits mehr als 800 Tests mit Freiwilligen genehmigt, deren Ergebnisse nun nach und nach veröffentlicht werden. Im vergangenen Jahr haben 1100 Firmen, die sich weltweit mit diesem Forschungszweig beschäftigen, nach Branchenangaben fast 20 Milliarden US-Dollar private und öffentliche Fördermittel eingeworben. Nobelpreisträgerin Emmanuelle Charpentier erklärt das mit dem großen Interesse junger Forscher an CRISPR/Cas. „Sie haben jetzt ein leistungsfähiges Werkzeug, mit dem sie Zellen und Orga-

### Was ist CRISPR/Cas?

Mit diesem natürlichen System wehren sich Bakterien gegen Viren. Es besteht aus zwei Teilen: CRISPR (abgekürzt von „Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats“, auf Deutsch: gehäuft auftretende, regelmäßig unterbrochene, kurze Palindrom-Wiederholungen) ist eine Art Gedächtnis des Bakteriums mit Erinnerungen an Viren-RNA. Das Bakterium speichert dazu Erbgut-Abschnitte dieser Viren. Cas (abgekürzt von „CRISPR-assoziiertes Protein“) liefert das schneidende Protein. Mit der Information aus CRISPR identifiziert Cas einen Eindringling als bekanntes Virus und zerschneidet die Viren-RNA, um das Bakterium zu schützen. Dieses natürliche System haben Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier im Labor nachgeahmt und dafür 2020 den Nobelpreis bekommen. Den Cas-Teil der Genschere gibt es in mehreren Varianten, mit denen Gentechniker verschiedene Aufgaben erledigen. Der Klassiker Cas9 schneidet beide Stränge der DNA-Helix, Cas9a hingegen nur einen. Cas3 schneidet nicht nur einmal, sondern arbeitet sich an der DNA entlang und zerlegt sie in Einzelteile. Cas12a ist eine Weiterentwicklung von Cas9, es ist etwas kleiner und schneidet präziser. CRISPR/Cas kann entsprechend vielfältig nicht nur in der Gentherapie, sondern auch in der Landwirtschaft eingesetzt werden, zum Beispiel um Pflanzen resistent gegen Schädlinge zu machen (siehe bild der wissenschaft Sonderausgabe 2021 „Ernährung“).

nismen auf eine Art und Weise untersuchen können, wie es vor 20 Jahren noch nicht möglich war“, sagt sie. Wird ein Gendefekt entdeckt, kann er möglicherweise mithilfe von CRISPR/Cas repariert werden.

CRISPR/Cas ist die zweite bahnbrechende Veränderung der Gentechnik. Der erste große Schritt lag in der Automatisierung der DNA-Analytik. Heute kann das Erbgut von Pflanzen, Tieren und Menschen binnen weniger Tage komplett



HI-Viren (grün in der Illustration) zerstören Lymphozyten (violett) und schwächen so das Immunsystem.

analysiert werden. Weltweit wächst das Wissen um die Bedeutung einzelner Gene, und so werden auch immer mehr Fehler in der DNA identifiziert. Mit CRISPR/Cas haben die Forscher jetzt ein Werkzeug, das Erbgut zu verändern. Die neue Technik ist schnell, billig und einfach in der Handhabung. CRISPR/Cas ist mittlerweile das am weitesten verbreitete Verfahren für neue Therapieansätze bei Krankheiten, die aufgrund von genetischen Defekten entstehen.

### Aufbau einer Aids-Resistenz

Schon lange im Fokus der Wissenschaftler steht die Immunschwäche Aids. Der Freiburger Molekularbiologe Toni Cathomen will Patienten behandeln, die sich mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) infiziert haben und nun an einem Lymphom leiden. „Das Ziel ist, dass die Patienten nach der Therapie krebsfrei

sind und gleichzeitig ein Immunsystem aufbauen, dass eine lebenslange Resistenz gegen HIV ermöglicht“, erklärt der Direktor des Instituts für Transfusionsmedizin und Gentherapie. Das wäre eine Sensation. Denn in 40 Jahren Aids-Forschung ist bisher noch kein Heilmittel gegen eine HIV-Infektion gefunden worden.

Auch Cathomen verändert das Genom von blutbildenden Stammzellen. Denn sie erzeugen T-Zellen, eine spezielle Form der Abwehrzellen im Immunsystem des Menschen. Das HI-Virus nistet sich in diesen T-Zellen ein und bremst damit das Immunsystem, das sogar vollständig zusammenbrechen kann. Um das Eindringen des HI-Virus zu verhindern, attackieren die Forscher das Gen CCR5. Diese Stelle im DNA-Strang codiert das Protein, das die Pforte für das HI-Virus öffnet. Die Gentherapie verändert die Oberfläche der

T-Zellen: HI-Viren können nicht mehr eindringen. Bei Mäusen und bei menschlichen Zellen hat das Konzept bereits funktioniert. „Doch leider fehlt uns das Geld für die Durchführung einer klinischen Studie“, bedauert Cathomen. In Deutschland sei es schwieriger als beispielsweise in den USA, Risikokapital für neue Therapien zu bekommen.

### Angriff direkt im Körper

Das bestätigt ein Bericht der Expertenkommission „Forschung und Innovation“, die die Bundesregierung berät. „In der Forschung zu CRISPR/Cas steht Deutschland im internationalen Vergleich nach der Zahl wissenschaftlicher Publikationen recht gut da und hat nur die USA und China vor sich“, erläutert der Kommissionsvorsitzende Uwe Cantner von der Universität Jena. Doch bei der Umsetzung der Erkenntnisse in Anwendungen fällt Deutschland zurück (siehe Kasten „Forschung und Anwendung im Vergleich“ unten). Schaut man auf die Zahl der Patente und der klinischen Studien, ziehen Südkorea, die Schweiz, Japan und andere Länder vorbei, heißt es in der Studie.

Die Veränderungen von blutbildenden Zellen sind Beispiele für Ex-vivo-Therapien, bei denen die Wissenschaftler den gentechnischen Eingriff im Labor vornehmen (siehe Kasten „Eingriff in die Gene“ auf der rechten Seite). Das hat den Vorteil, dass sich der Erfolg besser kontrollieren lässt. Doch bei vielen Erkrank-

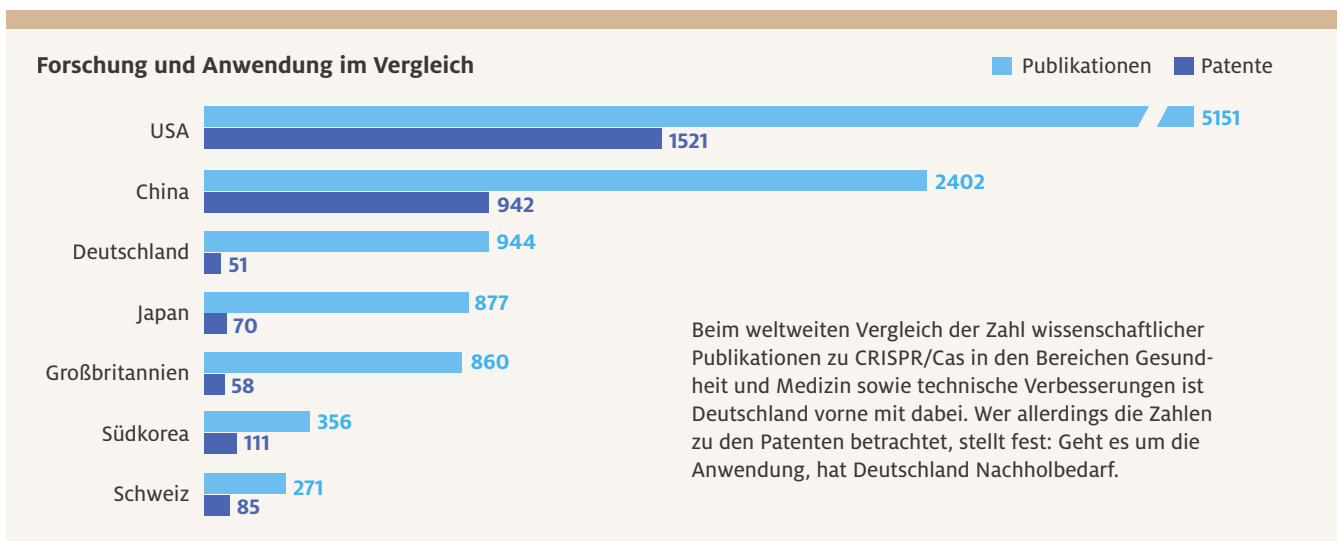


Illustration: Kateryna Kom/Science Photo Library/Getty Images; bdw-Grafik: Ricardo Martins; Quelle: EFI – Expertenkommission Forschung und Innovation 2021, Gutachten zu Forschung, Innovation und technologischer Leistungsfähigkeit Deutschlands 2021



kungen müssen die Ärzte die Zellen mit der Genschere direkt im menschlichen Körper angreifen.

Eine der ersten In-vivo-Gentherapien war das Medikament Luxturna, das gegen den Sehverlust bei der seltenen Erbkrankheit Leber'sche kongenitale Amaurose eingesetzt wurde. Die Patienten haben höchstens 20 Prozent des normalen Sehvermögens, können kaum Farben wahrnehmen und nur bei starken Lichtquellen einigermaßen sehen. Luxturna ist seit 2012 in Europa zugelassen. Das Mittel enthält funktionierende Kopien des RPE65-Gens. Dieses produziert eine Substanz, die für das Sehen bei beginnender Dunkelheit wichtig ist. Das Medikament wird hinter die Netzhaut ins Auge gespritzt und verbessert für einige Jahre das Sehvermögen der Patienten bei schlechten Lichtverhältnissen. Das Auge ist ein guter Ort zum Test neuer Therapien, weil es ein nahezu geschlossenes System mit nur

wenig Austausch zum restlichen Körper und geringer Immunreaktion bildet. Luxturna gehört aber noch zu den Gentherapeutika der ersten Generation. Das US-Unternehmen Editas Medicine testet seit

### **Klinische Studien mit Blutern verlaufen bislang sehr erfolgreich**

2020 eine Therapie mit CRISPR/Cas, die ein defektes Gen im Auge nicht ersetzen, sondern reparieren soll.

Die ersten Erfolge der Gentherapie bei Krankheiten, die vorher nicht behandelt werden konnten, haben die Entwickler ermutigt. Sie übertragen das Therapiekonzept auf häufiger auftretende Krankheiten, bei denen die Gentherapie eine

andere Behandlung ersetzen soll. Vor vier Jahren begannen die ersten klinischen Studien mit Blutern. Bei dieser Krankheit ist die Blutgerinnung gestört, auch eine kleine blutende Wunde kann zur tödlichen Gefahr werden. Die Ursache sind genetische Defekte: Die Betroffenen können einen der 13 Gerinnungsfaktoren nicht bilden, die für die Wundheilung nötig sind. Bisher wurde die Therapie nur bei wenigen Patienten angewandt, denn die Forscher wollen erst abwarten, ob negative Langzeitfolgen auftreten. Bisher erleben die Studienteilnehmer eine deutliche Besserung. Die Zahl der täglichen Blutungen verringert sich bei ihnen um 90 Prozent.

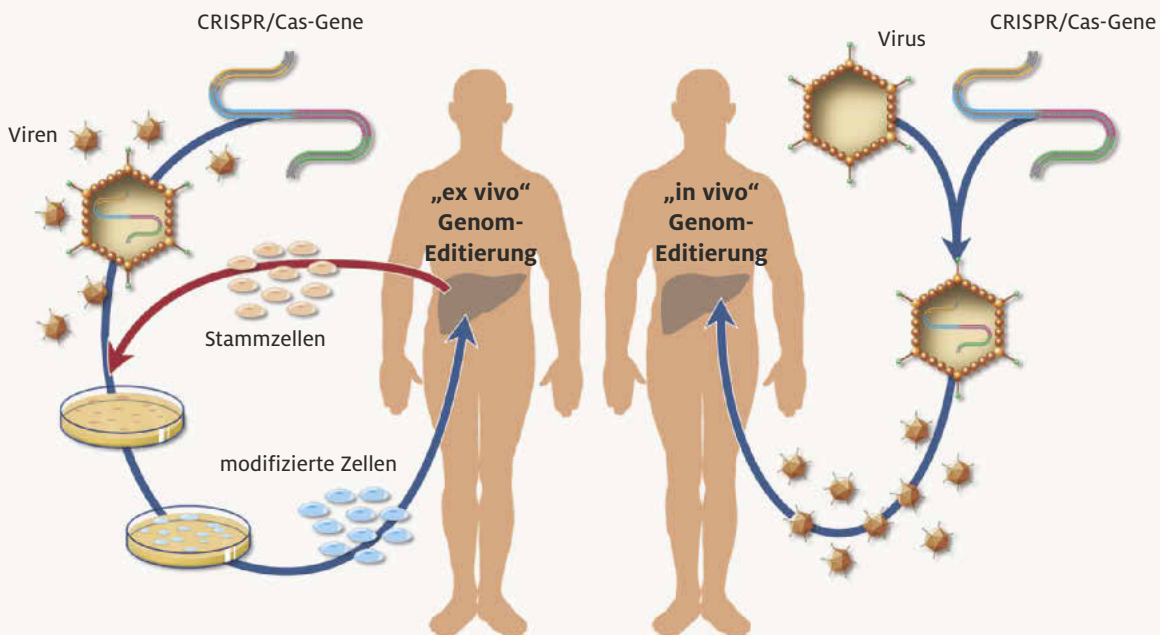
Bei einigen Erkrankungen ist ein regelrechtes Wettrennen zwischen verschiedenen Ansätzen für eine Gentherapie entstanden. In den USA hat die Stiftung Cystic Fibrosis Foundation bis zum Jahr 2025 eine halbe Milliarde Dollar



#### **Eingriff in die Gene**

Es gibt zwei Wege, mithilfe von Gentechnik zu therapieren. Bei der „ex vivo“ Genom-Editierung verändern Forscher blutbildende Zellen im Labor (links). Bei der „in vivo“ Genom-Editierung wird die Genschere dagegen direkt im Körper eingesetzt (rechts). Das CRISPR/Cas-System benötigt in beiden Fällen ein Vehikel, mit

dem es die Zellmembran passieren kann. Das können harmlose, leicht veränderte Erkältungsviren sein, die CRISPR/Cas transportieren (Grafik). Andere Forscher setzen auf wasserunlösliche, fett-haltige Nano-partikel als Gen-Fähre, wie sie auch bei den Corona-Impfstoffen von Biontech und Moderna verwendet werden.





Ein Forscherteam um den Immunologen Hans Clevers von der Universität Utrecht testet die Genschere an künstlichem Gewebe.

für Forscher zur Verfügung gestellt, die neue Therapien gegen Mukoviszidose entwickeln. Bei dieser schweren Erkrankung sammelt sich zäher Schleim in Lunge, Darm und anderen Organen, deren Funktionen dadurch massiv beeinträchtigt werden. Mehr als die Hälfte der Betroffenen sterben vor ihrem 40. Geburtstag. Die Krankheit entsteht durch Mutationen im CFTR-Gen und kann bisher nicht geheilt werden. Inzwischen sind mehr als 2000 verschiedene Varianten bekannt, die auf unterschiedliche Mutationen in dem großen Gen zurückgehen. Eine niederländische Forschergruppe um

Hans Clevers hat eine Biobank mit gezüchteten Geweben für 154 CFTR-Mutationen angelegt und testet daran die Reparatur der Zellen mit CRISPR/Cas. Die Genschere verwandelt dabei ein fehlerhaftes DNA-Basenpaar präzise in die korrekte Version. Die Wissenschaftler wollen den Laborbefund nun in die Klinik bringen.

Gentherapien könnten sich auch zur vorsorglichen Behandlung von Erkrankungen eignen, deren Symptome sich erst im Laufe des Lebens ausprägen, etwa bei der seltenen Amyloidpolyneuropathie. Hier sorgt ein Gendefekt dafür, dass das Protein Transthyretin bei der Produktion

in der Leber falsch gefaltet wird. Durch diesen Fehler lagert sich das Protein im Nervensystem der Betroffenen ab, verursacht Schmerzen und Lähmungen, bis hin zu Demenz und Blutungen im Gehirn. Die Symptome treten erst ab dem 20. Lebensjahr oder später auf, aber die Patienten wissen oft um ihr Schicksal, denn die Krankheit wird vererbt. Im November letzten Jahres wurde in Großbritannien der erste Patient mit einer CRISPR/Cas-Therapie behandelt. Die Genschere soll das defekte Gen zerschneiden, bis es nicht mehr funktioniert. Damit entfallen die heftigen Auswirkungen der Ablagerungen. Die Forscher hoffen, dass sich damit die Lebensqualität der Menschen verbessert. Bisher müssen die Erkrankten auf ein Spenderorgan warten.

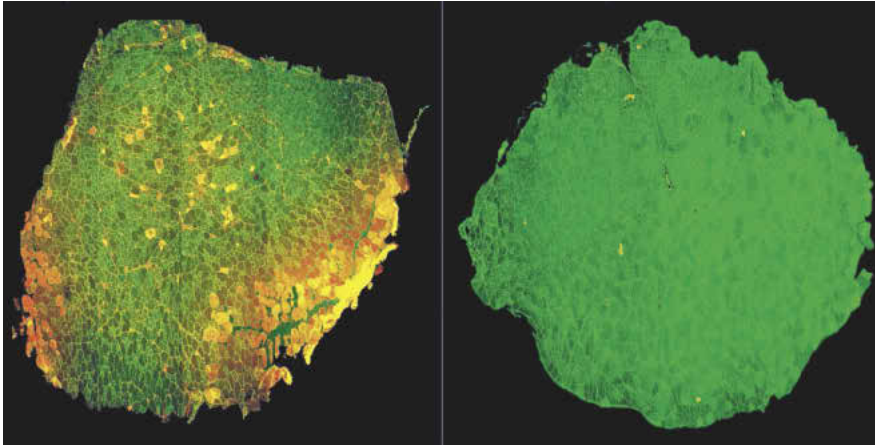
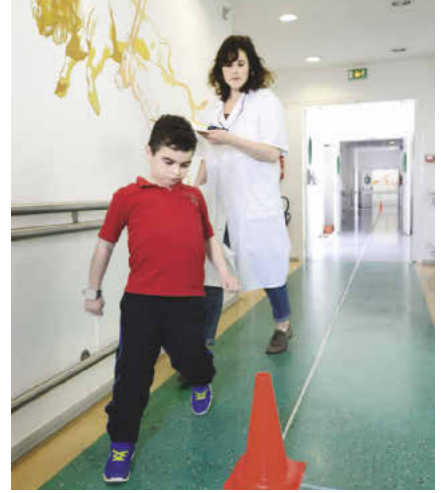
### Einsatz gegen Grippe

Die Möglichkeiten scheinen nahezu unbegrenzt. Einige Forschergruppen wollen mit dem CRISPR/Cas-System das Erbgut von Bakterien und Viren attackieren, um die Vermehrung der Krankheitserreger zu stoppen. US-Wissenschaftler in Atlanta schleusten eine Boten-RNA (mRNA), die Anweisungen zur Herstellung eines speziellen Cas-Proteins enthält, in die mit dem Virus infizierte Zelle ein. Sobald das Protein erzeugt wird, erkennt es die Viren-RNA und zerschneidet sie. Die Forscher um Philip Santangelo behandelten grippekranken Mäuse und Hamster mit einem Nebelspray, um das CRISPR/Cas-System tief in die Lunge zu bringen. Die Lungenzellen reagierten

Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier wurden 2020 als Entdeckerinnen des CRISPR/Cas-Systems mit dem Chemie-Nobelpreis ausgezeichnet. Während die wissenschaftliche Bedeutung anerkannt ist, tobt um die Vergabe der Patentrechte für den kommerziellen Einsatz des Verfahrens als Werkzeug der Gentechnik ein heftiger Streit. Die University of California in Berkeley hat für Doudna und Charpentier Patentanträge bei der zuständigen US-Behörde gestellt. Die vergab die Rechte im April 2014 aber an Feng Zhang am Massachusetts Institute of Technology und George Church an der Harvard University, weil sie die ersten CRISPR-Experimente mit tierischen und menschlichen Zellen gemacht hatten. Seitdem wird der Streit vor Gericht ausgefochten. In der Corona-Pandemie verzichteten die Wissenschaftler aber auf Patentrechte und Lizenzen. Weltweit dürfen Forscher CRISPR-Cas im Kampf gegen COVID-19 verwenden. Derzeit werden Tests und Medikamente auf Basis der Genschere entwickelt. Die Idee liegt nahe, weil Bakterien sich mit CRISPR-Cas gegen Viren verteidigen.



KU Leuven/Rob Stevens; picture-alliance/AP Images/Yomiuri Shimbun



Die Gentherapie bei Duchenne-Muskeldystrophie wurde an Mäusen getestet (links). Nach der Therapie waren keine abgestorbenen Muskelfasern (gelb-orange) mehr in der Mikroskop-Aufnahme der Vordergliedmaßen zu sehen. Doch bei vielen Kindern besserten sich die Symptome nach der Gentherapie nicht wesentlich. Oben: Ein neunjähriger Junge mit Muskelschwäche bei einem Testlauf.

auf die Genschere wie erhofft: Das Grippevirus konnte sich nicht so stark vermehren wie in der Vergleichsgruppe ohne Behandlung. Die Forscher gehen davon aus, dass dieser Ansatz gegen 99 Prozent der Grippestämme wirkt, die im letzten Jahrhundert auf der Welt zirkuliert sind.

Im März hat ein Team aus Bioingenieuren um Ana Moreno in San Diego eine mögliche Therapie für Patienten mit starken chronischen Schmerzen vorgestellt. Denn es hat sich gezeigt, dass der Natriumkanal Nav1.7 bei chronischen Schmerzen in der Signalübertragung eine wichtige Rolle spielt. Chemische Substanzen, die als Medikament diesen Kanal hemmen sollten, sind bisher nicht erfolgreich, weil sie auch andere Signalübertragungen stören. Das führt zu starken Nebenwirkungen. Ana Moreno will nun das Gen abschalten, das Nav1.7 stimuliert. Bei Mäusen war das erfolgreich. Die Schmerzlinderung hielt zum Teil bis zu 44 Wochen an. Nebenwirkungen traten kaum auf. Moreno ist inzwischen Geschäftsführerin einer Firma, die die neue Behandlung auch an Menschen testen will.

Doch es gibt auch schlechte Nachrichten. Der medizinische Fortschritt entsteht nicht ohne Rückschläge. Patienten, die als Freiwillige Gentherapien testen,

werden mehrere Jahre intensiv beobachtet. In dieser Phase werden die Daten für die spätere Zulassung der Therapie gesammelt. Dabei entdecken die Ärzte manchmal überraschend Krebserkrankungen. Die klinische Studie wird dann sofort unterbrochen. Denn es ist denkbar, dass eine Veränderung im Erbgut stillgelegte Krebs-Gene aktiviert. Außerdem kann die Genschere an einer falschen Stelle schneiden oder andere Fehler im Erbgut erzeugen.

### TÜV-Prüfung für die Genschere

„Wir wissen, dass manchmal an der Schnittstelle der Genschere Umlagerungen in der DNA stattfinden“, sagt Toni Cathomen. Solche chromosomalen Umlagerungen können später Krebs auslösen. Der Freiburger Forscher hat deshalb für die Werkzeuge der Gentherapie ein Analyseverfahren entwickelt, das als eine Art TÜV-Prüfung dienen könnte. „Wenn wir bei dieser Voruntersuchung keine Umlagerungen sehen, gehe ich davon aus, dass der Einsatz für die Therapie sicher ist.“

Doch eine plötzliche Krebserkrankung bei einem behandelten Patienten muss nicht zwingend durch die Genschere ausgelöst worden sein: Auch der schlechte Allgemeinzustand oder die Vorbereitung des Patienten auf die Therapie können dafür verantwortlich sein. Jeder einzelne

Fall wird untersucht. Das kostet Zeit, doch die ist nötig, um die Sicherheit der Behandlung zu gewährleisten.

Manche vielversprechende Gentherapie endete auch mit einer anderen Art von Enttäuschung. US-Forscher behandelten 41 Jungen, die an der Duchenne-Muskeldystrophie leiden. Die Kinder produzieren zu wenig Dystrophin, ihnen fehlt somit ein wichtiges Strukturprotein von Muskeln. Sie entwickeln sich zunächst normal, aber ab dem dritten Lebensjahr setzt eine Muskelschwäche ein. Mit acht Jahren können die Kinder nicht mehr allein aufstehen, wenn sie liegen oder sitzen. Später sind sie auf den Rollstuhl angewiesen. Die Hoffnung in die Gentherapie hat sich bei dieser Krankheit leider nicht erfüllt. Im Durchschnitt besserte die Gentherapie den Verlauf der Krankheit nur unwesentlich, ergaben die Studiendaten nach mehreren Jahren. Die Entwickler der Therapie wollen trotzdem weitermachen. Denn die Daten für jüngere Kinder sind besser als die für ältere. ■



**RAINER KURLEMANN** verfolgt die Genforschung seit mehr als 20 Jahren. Er ist überrascht, wie schnell sich dieses Gebiet entwickelt.