Veterinärmedizinische Universität Wien

Mag. Stanislav INDIK

Institute of Virology

Department of Pathobiology

Sichere retroviralen Vektoren für medizinische Anwendungen

Auf Retroviren basierende Nanopartikel (RBNs) sind effiziente Hilfsmittel zur Verabreichung von pharmazeutischen Wirkstoffen – im Speziellen auch für solche aus dem Bereich der zielgerichteten molekularen oder genetischen Therapien. Die Anwendung solcher Träger für gentherapeutische Anwendungen – zur Eradikation von Tumorgewebe oder der Behandlung von angeborenen genetischen Defekten – wurde vor kurzem demonstriert (Bushman, 2007). Das Potential für Anwendungen von RBNs in der Medizin wurde kürzlich noch erweitert als gezeigt werden konnte, dass damit differenzierte somatische Zellen zu pluripotenten Zelltypen re-programmiert werden können.

Effektiv lassen sich somit patienten- und krankheitsspezifische Stammzellen herstellen (Takahashi et al, 2007). Trotz des enormen Potentials von RNBs ist ihre klinische Verwendung durch unerwünschte Nebeneffekte, die durch die Integration in ungünstige Stellen des Wirtsgenoms entstehen, eingeschränkt. Diese Insertion ist notwendig, um die gewünschte langfristige therapeutische Wirkung zu erzielen. Obwohl Wissenschaftern die mögliche Genotoxizität der Insertion von retroviralen Vektoren bekannt war, ging man davon aus, dass die an zufälligen Stellen auftretende Integration von Retroviren nur in äußerst seltenen Fällen zu negativen Folgeerscheinungen führen dürfte.

Die Verwendung neuer, hochentwickelter, molekularbiologischer Techniken (vor allem im Bereich der Hochdurchsatz-Sequenzierung von Nukleinsäuren) ermöglichte eine neue, kritische Beurteilung der Modelle bezüglich der zufälligen Integration von retroviralen Vektoren. Verschiede Studien zeigten, dass gentherapeutische Vektoren, basierend auf Retroviren, fern davon sind zufällig zu integrieren, wie bisher für RNBs angenommen wurde.

So haben zum Beispiel Vektoren, die auf Gammaretroviren als Plattformen für RNBs basieren, eine starke Präferenz zur Integration in oder nahe bei Promotoren gezeigt, den Regionen also, die unmittelbar für die Regulation der Genexpression zuständig sind. Ein anderer Typ von gentherapeutischen Vektoren, basierend auf Lentiviren, zeigt keine bevorzugte Integration in Promotorregionen, dafür aber in Zielregionen

innerhalb von Genen. Im Licht dieser neuen Erkenntnisse scheint es nicht überraschend, dass retro- und lentivirale Vektorsysteme eine Genotoxizität zeigen, die größer ist als ursprünglich angenommen worden war.

Wir konnten kürzlich zeigen, dass ein Betaretrovirus, das murine Mammatumorvirus (MMTV), im starken Gegensatz zu retro- und lentiviralen Vektorsystemen und alle andere Retroviren tatsächlich ein zufälliges Integrationsprofil in das Wirtsgenom zeigt (Faschinger et al., 2008). Diese Beobachtung führte uns zur Schlussfolgerung, dass die Sicherheit von gamma- oder lentivirus- basierender Vektoren erheblich gesteigert werden kann, wenn die gamma- oder lentivirale Integrase durch die MMTV Integrase ersetzt wird.

Virale Integrasen sind die primären Determinanten der Integrationsreaktion und deswegen sollte der Austausch der Integrase zu einem veränderten Integrationsverhalten der rekombinanten Viren führen, die das der „Donorintegrase“ widerspiegeln sollte. Das bedeutet, dass durch die Verwendung der MMTV Integrase (die Integration an zufälligen Stellen im Genom bewirkt) in lentiviralen oder gammaretroviralen Vektorsystemen eine deutliche Reduktion der Integration an ungünstigen Stellen (Promotoren, Gene) erreicht werden kann. Diese Modifikation von RNBs sollte deswegen die Sicherheit in der Anwendung solcher Vektoren erhöhen und das Risiko von insertioneller Mutagenese drastisch reduzieren.

Der Endbericht des Projektes liegt in der Bibliothek der Wirtschaftskammer Wien auf.