

**J.J. Schmitt  
L. Hennen  
Th. Petermann**

**Mai 1994**

# **Stand und Perspektiven naturwissenschaftlicher und medizinischer Problemlösungen bei der Entwicklung gentherapeutischer Heilmethoden**

*(Erster Sachstandsbericht im Rahmen des  
Monitoring-Vorhabens "Gentherapie")*



# Inhalt

<b>Vorwort</b> .....	<b>1</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>3</b>
<b>I. Einleitung</b> .....	<b>7</b>
<b>II. Überblick über den Stand der Entwicklung der Gentherapie und die ethische und politische Diskussion</b> .....	<b>8</b>
1. Stand der Entwicklung der Gentherapie .....	8
2. Gentherapie und genetische Tests: Gesellschaftliche Probleme .....	11
3. Die politische Diskussion.....	14
<b>III. Bewertung der Risiken verschiedener gentherapeutischer Me- thoden</b> .....	<b>17</b>
1. Allgemeine Beschreibung verschiedener Methoden der Gen- therapie und Erörterung von Sicherheitsfragen .....	17
2. Die Diskussion der Sicherheit von Systemen des Gentransfers und von Vektoren .....	22
3. Zusammenfassende Beurteilung der Methoden der Gentherapie und Gentransfersysteme.....	36
<b>IV. Fortführung des Monitoring-Vorhabens "Gentherapie": Dar- stellung der politisch-rechtlichen Diskussion</b> .....	<b>40</b>
<b>Literatur</b> .....	<b>42</b>

<b>Anhänge .....</b>	<b>44</b>
I. Veröffentlichte klinische Genmarkierungs- und Gentherapieprotokolle.....	45
II. Bekanntmachung der Bundesärztekammer: Richtlinien zur Gentherapie beim Menschen .....	61
III. Aus dem Gutachten von Mertelsmann et al., Universität Freiburg: Zusammenfassung und abschließende Beurteilung .....	63
IV. Aus dem Gutachten Schendel/Modrow 1993, Universitäten München und Regensburg: Offene Fragen und Perspektiven .....	65
V. Aus dem Gutachten Tappeser/Panholzer, Öko-Institut e.V. Freiburg: Zusammenfassung und Abschätzung der Einsatzmöglichkeiten und der Anwendungsfelder gentherapeutischer Behandlung.....	70
VI. Positionspapier des Verbandes der Chemischen Industrie e.V. (VCI) zur Gentherapie .....	76
 <b>Glossar .....</b>	 <b>78</b>



## Vorwort

Im Rahmen des gesamten Arbeitsprogramms des TAB kommt dem Arbeitsbereich **Monitoring** besondere Bedeutung zu. Seine Zielsetzung besteht in

- der Beobachtung wichtiger wissenschaftlich-technischer Trends und damit zusammenhängender gesellschaftlicher Entwicklungen. Angestrebt wird u.a. die frühzeitige Unterrichtung des Ausschusses für Forschung, Technologie und Technikfolgenabschätzung über potentiell bedeutsame TA-Themen unter Verdeutlichung der parlamentarischen Relevanz;
- der Verfolgung und Auswertung wichtiger TA-Projekte innerhalb und außerhalb der Bundesrepublik Deutschland.

Für den Zeitraum 1994/95 enthält das Arbeitsfeld Monitoring vor allem vertiefende Untersuchungen zu einzelnen Technikfeldern und Analysen zu gesellschaftlichen Problemfeldern mit technologiepolitischen Implikationen.

Augenblicklich laufen Monitoring-Projekte zu den Themen **Gentherapie** sowie **Technikakzeptanz und Kontroversen über Technik**, die im März 1993 zusammen mit den neuen TA-Projekten vom Ausschuß für Forschung, Technologie und Technikfolgenabschätzung in Auftrag gegeben wurden. Außerdem wurden Arbeiten zu einem Monitoring im Bereich **Energiepolitik** aufgenommen. Monitoring-Aktivitäten für den Bereich **Multimedia-Technologien** werden vorbereitet.

Der vorliegende erste Bericht zum Thema "Gentherapie" hat seinen Schwerpunkt in der Beschreibung und Bewertung naturwissenschaftlich-medizinischer Probleme bei der Entwicklung gentherapeutischer Heilmethoden. Mögliche problematische gesellschaftliche Entwicklungen, z.B. durch die Veränderung des Krankheitsbegriffes im Zusammenhang mit der Entwicklung neuer diagnostischer und therapeutischer Möglichkeiten auf der Ebene menschlicher Gene, sind nur kurz dargestellt. Ebenso werden Fragen der politischen Bewertung der Gentherapie sowie der gesetzlichen Regelung gentherapeutischer Heilversuche und späterer Zulassungen als Therapieformen in diesem Bericht nur gestreift. Sie könnten Schwerpunkt des nächsten Berichtes sein.

Innerhalb der naturwissenschaftlich-medizinischen Entwicklung der Gentherapie legt dieser Bericht den Schwerpunkt auf die Diskussion verschiedener Methoden des Gentransfers. Aus der Sicht des TAB wurde die Sicherheit dieser Methoden in bislang vorliegenden Untersuchungen nicht ausreichend erörtert. Das TAB hat deshalb zu diesem Thema drei Gutachten vergeben. Auftragnehmer waren Professor Dr. D.J. Schendel zusammen mit Privatdozentin Dr. S. Modrow von den Universitäten

München und Regensburg; Professor Dr. R. Mertelsmann unter Mitarbeit von Privatdozent Dr. A. Lindeman und Dr. F.M. Rosenthal von der Universität Freiburg; und Dr. B. Tappeser zusammen mit B. Panholzer vom Öko-Institut e.V., Freiburg. Dr. N. Siegmund-Schultze hat als freie Mitarbeiterin das TAB bei der Zusammenfassung der Gutachten unterstützt. Kommentiert wurde der Bericht von Dr. L. Weiß, Hamburg und Prof. Dr. B. Gansbacher, New York.

Der hiermit vorgelegte Bericht des TAB stützt sich in hohem Maße auf die Ergebnisse der in Auftrag gegebenen Gutachten. An zahlreichen Stellen des Berichts sind Textpassagen sinngemäß übernommen worden. Auf die jeweilige Angabe der entsprechenden Quellen wurde verzichtet. Die Verantwortung für die Auswahl und Interpretation der in diesem Bericht eingearbeiteten Ergebnisse aus den Gutachten liegt ausschließlich bei den Autoren des Berichts.

## Zusammenfassung

In keine andere Entwicklung neuer Therapieformen wird zur Zeit größere Hoffnung gesetzt, endlich Behandlungsmethoden gegen schwerste und leidvolle Erkrankungen des Menschen zu finden, als in die Entwicklung gentherapeutischer Methoden. Bei der Gentherapie werden Gene in den Körper des Patienten eingebracht. Diese können zum einen Fehlfunktionen von Genen des Patienten abschalten, ersetzen oder durch funktionsfähige Genprodukte ergänzen (Therapie von Genen). Zum anderen kann die Gentherapie aber auch zur Bekämpfung von Krankheitssymptomen eingesetzt werden, wobei die Produktion eines therapeutisch wirksamen Stoffes in den Körper des Patienten verlegt wird (Therapie mit Genen). Ursprünglich wurde versucht mit gentherapeutischen Methoden vor allem Erbkrankheiten zu heilen, die auf der Fehlfunktion eines einzigen Genes beruhen (z.B. der vererbte *Adenosin-Desaminase-Defekt* [ADA-Defekt]). Inzwischen werden aber auch gentherapeutische Heilversuche gegen komplizierte und weit verbreitete Krankheiten wie Krebs und AIDS erprobt. Auch gentherapeutische Behandlungen gegen Krankheiten, die noch nicht ausgebrochen sind, für die aber eine genetische Veranlagung (Disposition) festgestellt werden kann, werden bereits diskutiert. Die Behandlung von genetischen Dispositionen wird von einigen Forschern als das eigentliche Anwendungsgebiet der Gentherapie in der Zukunft gesehen (Anderson 1994, S. 228).

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen gentherapeutischen Veränderungen von Körperzellen (Somazellen), die nicht an die Nachkommen der Patienten weitergegeben werden, würden Veränderungen von Fortpflanzungszellen des Menschen (Keimbahnzellen) vererbt werden. Da Keimbahntherapien an Menschen - neben ethischen Problemen bei Experimenten mit menschlichen Embryonen - ein Tor zur Menschengzüchtung und zu Verbesserungsversuchen des Genpools ganzer Bevölkerungsgruppen (Eugenik) öffnen könnten, wurde die Keimbahntherapie in Deutschland 1990 durch das Embryonenschutzgesetz verboten. Dieser Entschluß fußt auf Ergebnissen der Arbeiten einer Reihe von Kommissionen, die sich seit 1983 mit möglichen Auswirkungen gentherapeutischer Behandlungen und den Notwendigkeiten der gesetzlichen Regelung befaßten. Im Gegensatz zum Verbot der Entwicklung und Anwendung von Keimbahntherapien sahen sie überwiegend keine Notwendigkeit, die Entwicklung von Gentherapien an somatischen Körperzellen einer gesonderten gesetzlichen Regelung zu unterwerfen. Durch die Beschränkung der Therapie auf das behandelte Individuum entstünden bei der somatischen Gentherapie auch keine neuen ethischen Probleme. Die somatische Gentherapie könne als eine Erweiterung bisheriger therapeutischer Möglichkeiten betrachtet werden. Zu beachten wären daher die allgemein anerkannten Grundsätze und Vorschriften für Therapieversuche (siehe Anhang II). Inzwischen wurde jedoch die Diskussion um die Notwendigkeit spezi-



fischer gesetzlicher Regelungen auch für die somatische Gentherapie aufgenommen. Da die Zuständigkeit für entsprechende gesetzliche Regelungen in Deutschland in den Kompetenzbereich der Länder fällt, regte der Deutsche Bundesrat im Oktober 1992 an, überprüfen zu lassen, inwieweit bestehende gesetzliche Regelungen ausreichend sind, um gentherapeutische Behandlungen abzudecken. Die Bundesregierung hat zur Prüfung dieser Frage eine interministerielle Bund-Länder-Arbeitsgruppe zur Gentherapie unter der Federführung des Gesundheitsministeriums eingerichtet. Diese Arbeitsgruppe beabsichtigt, in Kürze einen ersten Teilbericht vorzulegen.

Mitentscheidend für die Notwendigkeit weiterer gesetzlicher Regelungen ist die Einschätzung von Risiken für Patienten und andere Menschen, die durch gentherapeutische Behandlungen und die Methoden des Transfers der therapeutisch wirkenden Gene in die Zellen und den Körper der Patienten entstehen könnten. Diese Fragen stellen den zentralen Gegenstand des vorliegenden Berichtes dar. Ethische Aspekte und die Diskussion langfristig möglicher gesellschaftlicher Folgen eines breiten Einsatzes gentherapeutischer Behandlungen (z.B. Veränderung des kulturellen Verständnisses von "Krankheit") werden nur gestreift (siehe II. 2.).

Risiken für die Patienten ergeben sich vor allem dadurch, daß der Transfer von Genen bisher nur relativ ungerichtet stattfinden kann und die Regulation der Gene im Körper der Patienten zur Zeit noch kaum beeinflußbar ist. Da mit bisherigen Methoden nicht sichergestellt werden kann, daß die Gene nicht auch in Körpergewebe und Zellen eingebracht werden, für die sie nicht bestimmt sind (z.B. in die Fortpflanzungszellen der Patienten) und dort Schaden anrichten, ist ein Transfer von Genen direkt in den Körper von Patienten (in vivo) nach Meinung einiger Wissenschaftler beim gegenwärtigen Stand der Wissenschaft und Technik kaum zu verantworten. Einige Mediziner umgehen diese Schwierigkeit, indem sie Zellen aus dem Körper von Patienten entnehmen, die neuen Gene in diese Zellen außerhalb des Patientenkörpers einbringen (Gentherapie ex vivo oder in vitro) und die Zellen dann dem Patienten zurückgeben. Da bei dieser Methode der Gentransfer auf die Zielzellen beschränkt ist und die Zellen vor Rückgabe geprüft werden können, gilt diese Methode als sicherer als die Gentherapie in vivo. Unabhängig von in vivo und ex vivo Methoden bleibt das Problem, daß es mit bisherigen Methoden nicht möglich ist zu bestimmen, an welchem Ort der Erbsubstanz einer Zelle die neuen Gene eingebaut werden. Durch die ungerichtete Integration neuer Gene können wichtige zelleigene Gene in ihrer Struktur unterbrochen und/oder ihre Regulation gestört werden. Im Extremfall ist nicht auszuschließen, daß dadurch Gene eingeschaltet oder Stoffe überproduziert werden, die zu bösartigen Entartungen von Zellen führen können.

Stammen die Genfähren (Vektoren), mit deren Hilfe die therapeutisch wirksamen Gene in die Zellen des Patienten eingeschleust werden, von Viren ab, sind Gefahren auch für andere Menschen, die Umwelt der Patienten, nicht mit Sicherheit auszu-

schließen. Für die Vektorgewinnung werden Viren zwar gentechnisch so verändert, daß sie sich nicht mehr vermehren können. Man erreicht dies, indem bei Vektor-Viren die Gene entfernt werden, die sie für ihre Vermehrung benötigen. Allerdings besitzen Viren die Fähigkeit, sich aus DNA-Stücken wieder zusammzusetzen (rekombinieren) und sich durch Mutationen ständig zu verändern und neuen Gegebenheiten anzupassen. Es wird deshalb befürchtet, daß sich rekombinierte Viren ausbreiten und Krankheiten bei Menschen auslösen könnten. Die Wahrscheinlichkeit, mit der eine solche Rekombination und Ausbreitung stattfindet, ist unter Experten umstritten. Die einen gehen davon aus, daß es der Wissenschaft nach großen Anstrengungen nun gelungen ist, die Vermehrungsfähigkeit und Rekombinationsfähigkeit der als Vektor benutzten Viren, insbesondere der häufig verwendeten Retroviren, unwiederbringlich zu zerstören, und daß daher die Gefahr einer Übertragung eines neuen Virus durch den gentherapeutisch behandelten Patienten auszuschließen oder als extrem unwahrscheinlich anzusehen ist. Andere gehen davon aus, daß mit wachsender Anwendung und Verbreitung gentherapeutischer Behandlungen auch die Wahrscheinlichkeit steigt, daß Viren die eingeführten Vermehrungs- und Rekombinationsblocks überwinden. Die Verwendung von Retrovirusstücken wird dabei als besonders problematisch angesehen, da zu den humanen Retroviren die Erreger von einigen Krebsformen und AIDS gehören. Sie plädieren daher dafür, auf virale und insbesondere retrovirale Vektoren zu verzichten, und andere Methoden des Gentransfers - von denen sich inzwischen eine ganze Reihe in der Entwicklung befinden - zu verwenden.

Andererseits ist die Risiko-Nutzen-Abwägung gentherapeutischer Methoden schwierig, da die generelle Wirksamkeit gentherapeutischer Methoden noch nicht bewiesen ist. Trotz über hundert Versuche gibt es erst sehr wenige Beispiele einer positiven Wirkung gentherapeutischer Behandlungen. Lebensverbesserungen wurden bei Kindern mit Adenosin-Desaminase-Mangel und einer Person mit familiärer Hypercholesterinämie erzielt. Bei einigen gentherapeutisch behandelten Krebspatienten konnte das Wachstum von Metastasen gestoppt oder die Geschwürgröße vermindert werden. Da die echte Heilung einer Erkrankung bisher nicht gelungen ist, läßt sich noch nicht einschätzen, welche gentherapeutischen Methoden die erfolgversprechendsten sind und auf welche verzichtet werden kann.

Ausgehend von der jeweiligen Bewertung der Gefahren und Risiken gentherapeutischer Methoden, lassen sich in Deutschland zur Zeit vier Positionen feststellen, wie in nächster Zukunft die weitere Entwicklung gentherapeutischer Behandlungsmethoden gestaltet werden sollte.

Die einen präferieren die Anwendung retroviraler Vektoren, da der Gentransfer mit diesen Gen-Taxis die größten Erfolgsaussichten für eine schnelle Weiterentwicklung



gentherapeutischer Behandlungen aufweist. Unerwartete Nebenwirkungen durch die Verwendung dieser Vektoren werden für nicht wahrscheinlich gehalten.

Eine zweite Gruppe von Wissenschaftlern verzichten bei ihren ersten klinischen Gentherapieversuchen auf die Verwendung von viralen und retroviralen Vektoren. Sie erproben nicht-virale Methoden des Gentransfers. Dadurch versuchen sie, Sicherheitsproblemen bei der Verwendung von Viren aus dem Weg zu gehen.

Eine weitere Gruppe von Wissenschaftlern fordert, vor einer Anwendung gentherapeutischer Methoden *in vivo* zuerst die Regulation der neuen Gene im Körper von Patienten wirksam beeinflussen zu können. Auch seien zuvor die Probleme mit dem Einbau von Genen nur in vorherbestimmte Zellen des Patienten (Gewebespezifität) und mit dem zielgerichteten Einbau der neuen Gene an vorherbestimmbare Orte in der Erbsubstanz der Patientenzellen (Problem der Insertionsmutagenese) zu klären. Für zur Zeit vertretbar halten sie daher höchstens Gentherapieversuche *ex vivo*.

Eine vierte Gruppe lehnt die Verwendung von viralen und insbesondere retroviralen Vektoren aus Sicherheitsgründen entschieden ab. Außerdem plädieren sie nicht zuletzt vor dem Hintergrund gesellschaftlicher Gefahren dafür, die Entwicklung gentherapeutischer Behandlungsmethoden - wenn überhaupt - nur für wenige und nur für solche Krankheiten zuzulassen, für die es keine Behandlungsalternativen gibt.

Von der Beurteilung der Sicherheit bisher entwickelter und bereits in der Erprobung befindlicher Systeme des Gentransfers für die Patienten und die sie umgebenden Menschen hängt die Notwendigkeit weiterer gesetzlicher Regelungen der Gentherapie ganz wesentlich ab. Aufbauend auf den vorliegenden Bericht plant das Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag in einem nächsten Bericht die aktuelle Debatte um die Notwendigkeit einer spezifischen gesetzlichen Regelung von gentherapeutischen Methoden sowie die Gesetzeslage und Regelungspraxis in anderen Ländern darzustellen.

# I. Einleitung

In Fortführung des TAB-Projektes "Genomanalyse - Chancen und Risiken genetischer Diagnostik" - beauftragte der Ausschuß für Forschung, Technologie und Technikfolgen-Abschätzung das Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB) im Rahmen des Arbeitsbereiches "Monitoring" mit der Bearbeitung des Themas "Gentherapie". Ziel ist die Beobachtung der Entwicklung und des Einsatzes der Gentherapie im naturwissenschaftlich-medizinischen Bereich. Außerdem sollen die Thematisierung der Gentherapie durch gesellschaftliche Gruppen und die politische Debatte um die rechtlichen Regelungen verfolgt werden.

Der Schwerpunkt des vorliegenden ersten Berichtes liegt auf der Darstellung der aktuellen Fortschritte und Probleme der Entwicklung der Gentherapie im Bereich der Naturwissenschaft und Medizin. Der Einfluß der breiten Nutzung gentherapeutischer Methoden auf die gesellschaftliche Entwicklung soll nur cursorisch angesprochen werden. Es wird auf die umfassende Darstellung der ethischen und sozialen Aspekte der Gentherapie in einem kürzlich für das BMFT verfaßten Gutachten verwiesen (SysTA Biomed 1994).

Des weiteren wird in diesem Bericht der Bedarf an rechtlichen Regelungen der Gentherapie nicht problematisiert. Für die zur Zeit durchgeführten ersten gentherapeutischen Heilversuche und klinischen Prüfungen gelten in Deutschland die Vorschriften des Embryonenschutzgesetzes, des Gentechnikgesetzes, des Arzneimittelgesetzes und standesrechtliche Regeln. Ein darüber hinausgehender Gesetzgebungsbedarf wird zur Zeit von einer Bund-Länder-Arbeitsgruppe zur Gentherapie geprüft. Die gesellschaftlichen, politischen und rechtlichen Aspekte des Einsatzes der Gentherapie wären gegebenenfalls durch nachfolgende Berichte darzustellen.

Die Gentherapie befindet sich zur Zeit in einer rasanten Entwicklung. Ihre konzeptionellen, methodischen und ökonomischen Aspekte verändern sich in kurzen Zeiträumen. Das wirtschaftliche Potential der Gentherapie ist daher bislang nur in Ansätzen erkennbar. Es wird erwartet, daß die ökonomischen Potentiale zum einen in der Lizenzvergabe zu patentierten therapeutisch wirksamen Genen liegen, zum anderen in der Entwicklung und Patentierung von Vektoren ("Genfähren" oder "Gen-Taxis"), mit deren Hilfe die Gene in Zellen von Patienten eingeschleust werden können. Zahlreiche Patente auf Gene und Firmengründungen zur Vektorentwicklung sind insbesondere in den USA bereits zu verzeichnen.

## **II. Überblick über den Stand der Entwicklung der Gentherapie und die ethische und politische Diskussion**

### **1. Stand der Entwicklung der Gentherapie**

Bei einer Gentherapie werden Gene, die therapeutische Effekte hervorrufen sollen, in Zellen des menschlichen Körpers eingeschleust. Dabei wird zwischen der Veränderung von Fortpflanzungszellen (der Keimbahn des Menschen) auf der einen Seite und Körperzellen (Somazellen) auf der anderen Seite unterschieden. Veränderungen der Keimbahnzellen werden an die nächste Generation vererbt, Veränderungen der Somazellen dagegen nicht. Sie erlöschen mit dem Tod der Zellen. Aus den USA kommend, flammt zur Zeit die Diskussion um die therapeutischen Möglichkeiten und die Zulässigkeit von Keimbahntherapien auch in Deutschland wieder auf (z.B. J. Nakott 1994, S. 56 und Sanides, Miketta 1993). Auch liegt dem Europäischen Patentamt in München seit kurzem ein Antrag auf die Erteilung eines Patentbeschlusses vor, in dem ein Verfahren zur Veränderung von Keimzellen bei Tieren vorgestellt ist, das sich, laut Antragsteller, einer amerikanischen Universität, auch zur Veränderung der Fortpflanzungszellen von Menschen eignet (Coghlan 1994). Eine gentherapeutische Behandlung der Keimbahn von Menschen ist in Deutschland jedoch durch das Embryonenschutzgesetz von 1990 verboten.

Zustimmung findet hingegen die Entwicklung einer Gentherapie an Körperzellen (somatische Zellen). Durch die somatische Gentherapie sollen Behandlungsmöglichkeiten gegen schwerste und leidvolle Krankheiten entwickelt werden, die mit bisherigen Methoden nur ungenügend therapierbar sind. Zunächst wurde vor allem an die Therapie relativ seltener monogen (von nur einem Gen) vererbter Krankheiten gedacht, schon bald aber auch an die Behandlung von anderen weitverbreiteten Krankheiten wie Krebs und AIDS. Inzwischen wird auch über die vorbeugende Behandlung (Prävention) von noch nicht ausgebrochenen Krankheiten, wie Chorea Huntington oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen, diskutiert. Nachdem inzwischen geeignete Transportsysteme (Vektoren) entwickelt worden sind, um Gene auch in menschliche Zellen einzubringen und dort zur Produktion (Expression) von Proteinen anzuregen, ist das theoretische Konzept für die Humanmedizin in Anwendungsnähe gerückt, zumal in Tierversuchen therapeutische Effekte dieser Methoden nachgewiesen worden sind. Durch gentherapeutische Behandlungen können zum einen fehlende oder falsche Funktionen patienteneigener Gene ersetzt werden. Kann dadurch die Ursache für eine Erkrankung des Patienten beseitigt werden (z.B. ein



angeborener Adenosin-Desaminase (ADA) -Mangel), liegt eine "kausale" Therapie, eine **Therapie von Genen**, vor. Ähnliche Effekte können theoretisch auch durch das gezielte "Ausschalten" von Genen im Körper des Patienten erreicht werden. Strategien dazu (z.B. die sog. Anti-Sense-Strategie) befinden sich bereits in der Erprobung an Tiermodellen. Gene, bzw. die von ihnen kodierten Stoffe, können andererseits zur Bekämpfung von Symptomen einer Krankheit (z.B. Krebs oder AIDS) eingesetzt werden. Dies entspricht dann einer symptomatischen **Therapie mit Genen**. Dazu können Gene auch in Gewebe und Körperzellen eingebracht und abgelesen werden, in denen sie normalerweise nicht aktiv sind, bzw. die im Körper von Menschen nicht vorkommen (z.B. Gene, die in Hirn-Tumorzellen eingeschleust werden können, um dort nach entsprechender Aktivierung ein Zellgift gegen diese Zellen zu produzieren).

Nach mehreren verfrühten und als unwissenschaftlich geltenden Gentherapieversuchen in den 70er und 80er Jahren wurden 1990 zwei Patientinnen mit einer seltenen, aber schweren erblichen Immunschwäche, der sog. Adenosin-Desaminase-Defizienz (ADA-Defizienz), und ein Patient, der an familiärer Hypercholesterinämie (eine Fettstoffwechselstörung mit einem erhöhten Risiko für Arteriosklerose und Herzinfarkt) leidet, gentherapeutisch behandelt. Bei diesen Patienten wird von positiven Krankheitsverläufen mit verbesserter Lebensqualität in Folge der gentherapeutischen Behandlungen berichtet. Weltweit sind seitdem über **hundert Gentherapieversuche** unternommen worden, davon die meisten in den Vereinigten Staaten. Aber auch im europäischen Ausland gibt es entsprechende Versuche, so in Italien, Frankreich, Großbritannien und den Niederlanden. Einen ersten Schritt in diese Richtung macht jetzt auch Japan: Nach achtmonatiger Beratung wurde vor kurzem erstmals ein Gentransfer-Versuch am Menschen genehmigt (Nature 1994, S. 399).

In der Bundesrepublik hat Professor Dr. Mertelsmann von der Universitätsklinik Freiburg als erster deutscher Wissenschaftler die Genehmigung erhalten, Patienten mit Nieren-, Darm- und Hautkrebs gentherapeutisch zu behandeln. Mindestens drei weitere deutsche Arbeitsgruppen bereiten sich auf gentherapeutische Experimente am Menschen vor. Dem Bundesforschungsministerium liegen derzeit ca. 245 Anträge von Forschergruppen in Verbindung mit Gentherapien vor (Ärzte Zeitung 1994).

Ein großer Teil dieser Versuche sind Vorstudien, mit denen erst die Grundlagen für einen späteren heilenden Einsatz geschaffen werden sollen. Gegenstand der gentherapeutischen klinischen Forschung sind zum einen Erbkrankheiten, wie die bereits erwähnte Adenosin-Desaminase-Defizienz (ADA-Defekt) und die erblich bedingte familiäre Hypercholesterinämie, aber auch die Bluterkrankheit (Hämophilie) und die Zystische Fibrose, eine schwere Erkrankung, die sich hauptsächlich in starken Schleimabsonderungen der Lunge manifestiert. Den zahlenmäßig größten Teil machen derzeit jedoch Experimente aus, deren Ergebnisse längerfristig dazu beitragen sollen, Krebserkrankungen zu therapieren, darunter Hauttumore wie das

maligne Melanom (bösartiger Hauttumor) und verschiedene Blutkrebsformen, Hirntumore und Brustkrebs (siehe Anhang I.).

Der Hoffnung auf mögliche zukünftige Heilerfolge mittels gentherapeutischer Behandlungen steht aber eine Reihe von bisher ungelösten Problemen gegenüber. Zwar sind schon sehr viele menschliche Gene und Genveränderungen bekannt, die mit Krankheiten in Verbindung gebracht werden, und fast monatlich werden es mehr. Es ist bisher aber noch nicht gelungen, diese Gene ortsgenau und richtig reguliert direkt in den Körper von Patienten einzubringen. Überproduktionen des therapeutisch wirksamen Stoffes sowie die Stoffproduktion am falschen Ort im Körper und zur falschen Zeit können jedoch zu lebensgefährlichen Nebenwirkungen führen (z.B. Schendel, Modrow 1993, S. 53; siehe Anhang IV).

Es fehlt also noch an sicheren und effizienten Methoden des Gentransfers. Der Idealfall wäre, wenn ein verändertes (mutiertes) Gen im Körper direkt oder in isolierten Zellen des Patienten gegen ein entsprechendes unverändertes Gen ausgetauscht werden könnte, weil das neu eingebrachte Gen dann auch unter seiner natürlichen Kontrolle stehen könnte. Trotz großer Anstrengung der Forschung ist dieses Ziel jedoch noch in weiter Ferne. Die zur Zeit unternommenen Gentherapieversuche sind daher auf Techniken angewiesen, die nur eine sehr grobe Regulation der Aktivität der neuen Gene zulassen und die außerdem die neuen Gene weder in ein bestimmtes Körpergewebe des Patienten noch ortsgenau an einer bestimmten Stelle der Erbsubstanz (DNA) der Zellen des Patienten einschleusen können. Bisherige Gentherapieversuche können daher nur mit Genen unternommen werden, deren genaue Regulation im Körper des Patienten nicht notwendig ist. Außerdem ist der ungenaue und meist mehrfache Einbau der neuen Gene in die DNA der Patientenzellen mit Risiken für den Patienten verbunden (siehe III. 2.) und bedarf daher besonderer Sicherheitsvorkehrungen. Bei Einhaltung dieser Vorkehrungen verliert die Gentherapie den von Verfechtern der Gentherapie oft genannten Vorteil, daß sie einfacher sein soll als viele bisherige Therapieformen. Auch der Vorteil, daß die Wirkung einer Gentherapie über das ganze Leben des Patienten andauern könnte und daher die Behandlung nicht wiederholt werden müßte, ist beim momentanen Stand der Technik nicht in Sicht und wird unter Sicherheitsüberlegungen eher kritisch betrachtet. Es muß daher weiter beobachtet werden, welche Bedeutung die Gentherapie im Repertoire medizinischer Therapien gewinnen und ob und bei welchen Krankheiten sie bisherigen Behandlungsmethoden überlegen sein wird. Angesichts möglicher schädlicher Nebenwirkungen für den Patienten wie auch gesellschaftlicher Folgeprobleme, scheint ein überlegtes und vorsichtiges Vorgehen bei der Entwicklung gentherapeutischer Methoden angebracht.

## 2. Genterapie und genetische Tests: Gesellschaftliche Probleme

Mit der Entwicklung genterapeutischer Behandlungsmethoden eröffnet sich die Möglichkeit, Krankheiten durch einen direkten Zugriff auf die Gene des Menschen zu behandeln. Die Schaffung der Voraussetzungen für eine gezielte Beeinflussung von Genen, nämlich die Kenntnis bestimmter Gene und der Funktion der von ihnen kodierten Produkte, ist bereits seit Jahren Gegenstand intensiv vorangetriebener Forschung. So sind bereits über 5000 vererbte und damit genetisch kodierte Eigenschaften (meist Krankheiten) des Menschen bekannt, und fast monatlich gelingt es Wissenschaftlern, diesen Eigenschaften bestimmte Gene zuzuordnen. In einem weltweit angelegten Projekt wird außerdem versucht, schon bis zum Jahre 2005 die Sequenz der gesamten menschlichen Erbsubstanz zu entschlüsseln und die somit in ihrer Struktur bekannten Gene mit Eigenschaften von Menschen zu korrelieren. Besonders häufige Genveränderungen, die mit weit verbreiteten Krankheiten in Verbindung gebracht werden können, sollen schon bald durch genetische Tests feststellbar sein. Ein erstes Beispiel dafür ist der bereits auf dem Markt erhältliche einfache Test für Genmutationen, die zur *Zystischen Fibrose*, einer tödlichen Verschleimung vor allem der Lunge, führen. Ähnliche Tests werden in Zukunft für alle häufigen Erbkrankheiten des Menschen erwartet, aber auch für vererbte und nicht vererbte genetisch feststellbare Risikofaktoren (Dispositionen) für weit verbreitete Krankheiten wie Manische Depression, Alzheimer, Bluthochdruck, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs usw. (Hennen, Petermann, Schmitt 1993, S. 30).

Humangenetiker schätzen, daß Erkrankungen, die durch den Defekt eines einzigen Gens verursacht werden, ca. 1 % der Bevölkerung betreffen. 5 % der Bevölkerung unter 25 Jahren litten an Krankheiten, bei denen eine bedeutende genetische Komponente beteiligt sei. Auch wiese der frühzeitige Tod von Erwachsenen (50 Jahre und jünger), wenn ein Unfall auszuschließen sei, eine starke genetische Mitbeteiligung auf. Herzerkrankungen und Krebs sowie die meisten chronischen Erkrankungen seien genetisch beeinflusst und beträfen ca. 60 % der Bevölkerung in den Industriestaaten (SysTA Biomed 1994, S. 11).

Da die Entwicklung genetischer Tests zunehmend vereinfacht und beschleunigt wird, zeichnet sich jetzt schon ab, daß die schwierige Entwicklung von Therapien gegen Krankheiten nicht mit ihrer Diagnose Schritt halten können wird. Es wird daher erwartet, daß in Zukunft die genetische Ursache von immer mehr Krankheiten, die bereits ausgebrochen sind oder deren Ausbruch aufgrund genetischer Dispositionen erwartet wird, feststellbar sein wird, ohne daß entsprechende Therapien gegen die diagnostizierten Genveränderungen und Krankheiten angeboten werden können (Hennen, Petermann, Schmitt 1993, S.31).



Es sollte deshalb bei der Darstellung und Diskussion der umfassenden, zumindest mittelfristig aber nur theoretisch vorhandenen Möglichkeiten genterapeutischer Behandlungsweisen der Eindruck vermieden werden, daß durch die Genterapie in Zukunft fast alle Krankheiten behandelbar sein werden und dadurch die individuellen und gesellschaftlichen Probleme einer erweiterten Diagnostik von Krankheiten, für die es kaum Behandlungsmöglichkeiten gibt, gelöst werden könnten.

Eine unkritische Darstellung genterapeutischer Möglichkeiten könnte auch die schon zur Zeit beobachtbare Tendenz verstärken, immer mehr Ursachen von Krankheiten und sonstigen Eigenschaften des Menschen hauptsächlich auf seine genetischen Voraussetzungen zurückzuführen.

In der Annahme, daß vor allem Genveränderungen die Ursache von Krankheiten sind, wird die Genterapie bereits als "kausale" Therapie bezeichnet, d.h. als Therapie, die die Ursachen der Krankheit, nämlich Genveränderungen, beseitigt. Kritiker befürchten, daß durch die Überbetonung genetischer Ursachen leicht andere, den Menschen formende Kräfte und alternative Erklärungsmodelle für das Entstehen von Krankheiten sowie andere Behandlungsweisen von Krankheiten außer Acht und damit auch außerhalb entsprechender finanzieller und personeller Förderung geraten könnten. So schätzten z.B. die Fachleute des 21. Deutschen Krebskongresses 1994 in Hamburg, daß 70 % der Krebserkrankungen durch einen falschen Lebensstil (vor allem falsche Ernährung und Rauchen) bedingt seien. "Das Schicksal in Gestalt von erblicher Veranlagung, Infektionen durch bestimmte Viren und Bakterien und anderen Zufallsereignissen, spielt also nur eine untergeordnete Rolle" (Simm 1994, S. 33).

Nach Strohmann sind der Genterapie ohnehin nur 2 % aller Erkrankungen des Menschen zugänglich, weil 98 % aller Krankheiten durch das komplizierte Zusammenspiel vieler Gene und einer Reihe von Umweltfaktoren (multifaktorielle Erkrankungen) entstehen. Selbst bei den 2 % der Krankheiten, deren Ursache auf die Veränderungen eines einzigen Gens zurückzuführen sei, würden die Ausprägung und der Verlauf der entsprechenden Krankheiten durch viele Faktoren beeinflußt (Strohmann 1994, S. 156). Es sei daher davon auszugehen, daß nicht die Gene in erster Linie die Funktionen des menschlichen Körpers steuern, sondern übergeordnete Netzwerke (epigenetic networks), die mit genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen interagieren und dadurch die genetische Antwort auf Umweltsignale organisieren. Demnach wären nicht Genveränderungen, sondern Störungen der körpereigenen Regelsysteme (z.B. durch eine falsche Lebensweise oder Umweltgifte), die Ursache für 98 % aller Krankheiten. Effektiver und ökonomischer für die Gesundheitsvorsorge (Prävention von Krankheiten) wäre es daher, nach den Ursachen der Störungen der Regelsysteme zu suchen, statt nach Genveränderungen, die im gesunden Organismus von funktionstüchtigen epigenetischen Regulationssystemen zu einem gewissen Grad kompensiert werden können (Strohmann 1994, S. 161).

Einige Wissenschaftler sehen im zunehmenden Gebrauch von Begriffen wie "defekte" oder "kranke" Gene ein weiteres Indiz für die Tendenz, daß der Einfluß der Gene bei der Krankheitsentstehung überbetont wird. Gene selbst können als "tote" chemische Substanz kaum krank im herkömmlichen Sinne sein. Krankheiten treten nur auf der Ebene von vollständigen Organismen auf (Bayertz, Schmidtke 1993, S. 102). Besonders anschaulich wird dies bei der Betrachtung der zahlreichen sog. rezessiven Mutationen, die jeder Mensch in seinen Genen trägt. Solche Genveränderungen kommen auf der Ebene des Organismus, also hier des Menschen, nicht zum Tragen, da neben jedem veränderten Gen ein unverändertes paralleles Gen für das richtige Genprodukt im Körper des Menschen sorgt. Trotz einer ganzen Reihe von "kranken" (besser: veränderten) Genen in jedem Menschen sind die meisten Menschen gesund. Eine Bedeutungsaufweitung des Begriffes "krank" vom Erscheinungsbild eines Menschen (Phänotyp) auf den Besitz von mutierten Genen (Genotyp) ist daher problematisch. Der Einstieg in eine solche Erweiterung des Begriffes könnte über die "Diagnose" von Genen geschehen, die mit großer Sicherheit zu einer späteren Erkrankung führen, wie im Falle der Krankheit Chorea Huntington. Ein zweiter Schritt wäre die "Diagnose" von Genen, die auf eine erhöhte Anfälligkeit für bestimmte Krankheiten hinweisen würden (z.B. für Krebs, Herzinfarkt und Allergien), ohne daß diese Krankheiten - bei entsprechender Lebensführung - tatsächlich immer ausbrechen. Da jeder Mensch eine ganze Reihe von mutierten Genen in sich trägt, die in Verbindung mit einer phänotypischen Erkrankung gebracht werden können, würden im Falle, daß Genveränderungen bei der Bewertung eines Menschen als gesund oder krank herangezogen würden, Menschen **nicht mehr als (mehr oder weniger) gesund, sondern als mehr oder weniger krankheitsanfällig** zu bezeichnen sein (Bayertz, Schmidtke 1993, S. 105), wenn die entsprechenden veränderten Gene nicht durch gentherapeutische Behandlungen korrigiert werden könnten.

Im Zusammenhang mit der von überzeugten Vertretern gentherapeutischer Methoden vorausgesagten breiten Anwendung der Gentherapie werden über die oben angesprochenen hinaus auch noch eine Reihe anderer Fragen aufgeworfen, die gesellschaftliche Entwicklungen betreffen. Im Rahmen dieses Berichtes können diese Fragen nicht im einzelnen diskutiert, sondern nur kurz angesprochen werden.

- Ist die präventive gentherapeutische Behandlung von phänotypisch gesunden Menschen, bei denen eventuell die prädisponierte Krankheit nie ausbricht, vor dem Hintergrund möglicher, auch noch so geringer, Restrisiken bei der Übertragung von Genen vertretbar ?
- Welche Genform soll als die Normalform gelten und welche Mutationen des Gens als Abweichung von dieser Norm? Wer entscheidet, welche Genmutationen eines Menschen eine Relevanz für eine gentherapeutische Korrektur besitzen?

- Bisher war die genetische Konstitution eines Menschen Teil seines (von der bisherigen Medizin nur wenig veränderbaren) Schicksals, mit dem er lernen mußte umzugehen. Die Genterapie könnte ihm - wenn zunächst auch nur theoretisch - die Möglichkeit eröffnen, besondere Anstrengungen zum Ausgleich oder zur weiteren Förderung seiner genetischen Veranlagung via Genkorrektur überflüssig zu machen.
- Beinhaltet die von einigen Wissenschaftlern angestrebte Möglichkeit, in ferner Zukunft viele genetische Dispositionen für eventuell ausbrechende Krankheiten schon im Kindesalter beseitigen zu können, nicht bereits eine "Verbesserung" des Menschen, und sind solche und möglicherweise auch weitergehende Verbesserungen menschlicher Eigenschaften erlaubt und erwünscht?

### 3. Die politische Diskussion

Das Thema Genterapie hat bereits eine Reihe von Gremien beschäftigt. Schon im September 1983 fand im Bundesministerium für Forschung und Technologie (BMFT) ein Fachgespräch zum Thema "Ethische und rechtliche Probleme bei der Anwendung gentechnischer und zytologischer Methoden am Menschen" statt. 1984 wurde zu diesem Thema eine interministerielle Arbeitsgruppe des BMFT und des Bundesministeriums der Justiz (die sog. *Benda-Kommission*) eingerichtet, die im November 1985 ihren Bericht zu Fragen der "In vitro-Fertilisation, Genomanalyse und Genterapie" vorlegte. Ebenfalls 1985 setzte der Deutsche Bundestag eine Enquête-Kommission zu *Chancen und Risiken der Gentechnologie* ein, die 1987 ihre Arbeit mit einem Bericht abschloß. 1986 wurde zu diesem Themenkreis eine Stellungnahme des Deutschen Juristentages erarbeitet. Von 1987 bis 1989 erstellte die Bioethik-Kommission des Landes Rheinland-Pfalz einen Bericht in Form von *Thesen zur Genomanalyse und Genterapie*. 1989 veröffentlichte die *Zentrale Kommission zur Wahrung ethischer Grundsätze in der Reproduktionsmedizin, Forschung an menschlichen Embryonen und Genterapie* der Bundesärztekammer *Richtlinien zur Genterapie beim Menschen*. Diese Richtlinien (siehe Anhang II) können als Spiegel der Diskussionsergebnisse in diesen Kommissionen und Arbeitskreisen gelten.

Grob zusammengefaßt bestand Konsens darüber, daß Genübertragungen auf den Menschen zum Zwecke der Steigerung seiner Fähigkeiten abzulehnen seien. Die Möglichkeit bzw. die Gefahr einer solchen "positiven" Eugenik wurde vor allem in Verbindung mit einer möglichen Veränderung der Fortpflanzungszellen (Keimbahnzellen) von Patienten oder Probanden gesehen, da nur bei der Veränderung der Keimbahn die eventuell "verbesserten" Eigenschaften des Menschen auf seine Nachkommen vererbt werden können. Die Frage der Zulässigkeit einer Keimbahn-



therapie zur Heilung schwerer Leiden, wie Erbkrankheiten, wurde jedoch kontrovers diskutiert. Es wurde argumentiert, daß angesichts großen Leids bei schwersten Krankheiten eine Keimbahntherapie (bei entsprechend verbesserter Technik) ethisch geboten sein könnte. Andererseits sei beim momentanen Stand der Technik, der eine Keimbahntherapie nur unter Inkaufnahme eines hohen "Verbrauchs" von menschlichen Embryonen möglich machen könnte, die Entwicklung einer Keimbahntherapie beim Menschen abzulehnen. Andere pragmatische Gründe waren, daß die Keimbahntherapie mit unvermeidbaren Risiken für die Betroffenen verbunden sei und einem Mißbrauch der Technik zur Menschengzucht Vorschub leisten würde.

Die Mitglieder der Enquête-Kommission *Chancen und Risiken der Gentechnologie* führten aber auch kategorische Gründe an, wonach beispielsweise eine Veränderung der menschlichen Keimbahn einer Veränderung der persönlichen Identität des Menschen gleichkäme (Enquête-Kommission 1987, S. 188). Sie forderten daher ein strafrechtliches Verbot der Keimbahntherapie. Weitgehend Konsens (gegen die Stimmen der GRÜNEN) bestand über eine positive Bewertung der somatischen Gentherapie. Dabei wird die somatische Gentherapie als eine spezielle Form der Substitutionstherapie angesehen. Ihrem Wesen nach werfe diese, zwar auf der Ebene der Erbinformation ansetzende, in ihrer Wirkung aber auf das behandelte Individuum beschränkte Therapie keine neuen ethischen Probleme auf. Zu beachten seien daher die allgemeinen Grundsätze und Vorschriften für Therapieversuche (Enquête-Kommission 1987, S. 183 und 184; siehe auch die Richtlinien der Bundesärztekammer, Anhang II).

Den Empfehlungen der meisten der oben genannten Kommissionen und Arbeitskreise folgend, verbot der Deutsche Bundestag 1990 mit der Verabschiedung des Embryonenschutzgesetzes die Keimbahntherapie und deren Entwicklung. Die somatische Gentherapie am Menschen wurde jedoch keiner gesetzlichen Regelung unterworfen. So ist der Bereich der Humangenetik auch aus dem 1990 verabschiedeten und 1993 novellierten Gentechnikgesetz ausgenommen. Das Gentechnikgesetz regelt lediglich die Sicherheit von gentechnischen Arbeiten mit Zellkulturen unter Laborbedingungen, d.h. die Vorbereitungen gentherapeutischer Maßnahmen am Menschen. Die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes enden jedoch am Krankenbett. Nach Artikel 74 des Deutschen Grundgesetzes fällt die Regelung der Anwendung gentherapeutischer Maßnahmen am Patienten in die Kompetenz der Länder. Rechtlichen Handlungsbedarf im Bereich der Humangenetik hatten die Beschlüsse der Konferenz der Justizminister und -senatoren vom 28./31. Mai 1990, vom 4./6. Juni 1991 und vom 19./21. Mai 1992 sowie die Entschlüsse der Konferenz der für das Gesundheitswesen zuständigen Minister und Senatoren der Länder vom 22./23. November 1990 und 24./25. Oktober 1991 signalisiert. Am 10. Juni 1992 beantragte der Freistaat Bayern eine Entschlußung des Bundesrates zur Anwendung gentechnischer Metho-

den am Menschen. Eine solche EntschlieÙung legte der Bundesrat am 16. Oktober 1992 vor. Darin dringt der Bundesrat auf die Prüfung u.a. folgender Punkte:

- "Ob für den Einsatz der somatischen Gentherapie gesetzliche Regelungen erforderlich sind,
- ob im Hinblick auf bestimmte gentechnische Verfahren wie z.B. DNA-Injektion die Grenzen zur Keimbahntherapie einerseits und zur Eugenik andererseits überschritten bzw. verwischt werden, und
- ob nicht auch die sog. Substitutionstherapie die Grenze zur Eugenik durchlässig macht.

Es ist ferner zu prüfen, inwieweit die 'anerkannten Regeln für Heilversuche' hinreichend sind, um Maßstäbe für die medizinisch-ärztliche Beurteilung der Anwendung der Gentherapie zu setzen" (Deutscher Bundesrat 1992).

Der Bundesrat hat außerdem deutlich gemacht, daß er an einer bundeseinheitlichen bzw. einheitlichen europaweiten Regelung interessiert ist.

Die Bundesregierung ist dem Beschluß des Bundesrates nachgekommen und hat eine interministerielle *Bund-Länder-Arbeitsgruppe* zur Gentherapie unter der Federführung des Gesundheitsministeriums gebildet. Diese Arbeitsgruppe konstituierte sich in Bonn am 11. Mai 1993, um über Regulationsfragen im Bereich von Gentherapie und Genomanalyse am Menschen zu beraten. Ein erster Teilbericht soll in Kürze vorgelegt werden.



### III. Bewertung der Risiken verschiedener gentherapeutischer Methoden

Entscheidend für die Beantwortung der Frage nach der Notwendigkeit weiterer Regelungen für die Gentherapie ist neben der Entwicklung der gesellschaftlichen Rahmenbedingungen die Beurteilung der aktuellen Sicherheit zur Zeit genutzter und in der Entwicklung befindlicher Techniken gentherapeutischer Methoden.

Besonders diskussionswürdig sind dabei die Risikopotentiale der Systeme des Gentransfers (Vektoren), die zum Einschleusen der Gene in den menschlichen Körper benutzt werden. Hierzu werden zunächst verschiedene Methoden der somatischen Gentherapie sowie die Diskussion der Sicherheit bei den ersten gentherapeutischen Heilversuchen dargestellt.

#### 1. Allgemeine Beschreibung verschiedener Methoden der Gentherapie und Erörterung von Sicherheitsfragen

Der Sinn einer Gentherapie ist die Behandlung von Krankheiten mit einem therapeutisch wirksamen Gen bzw. seinem Genprodukt (Therapie mit Genen) oder die Blockierung eines Gens im Körper des Patienten durch kurze, teilweise künstlich synthetisierte DNA-Stücke (Therapie von Genen, z.B. durch die sog. Anti-Sense-Strategie). Die eingebrachten Gene oder DNA-Abschnitte können aber nur dann ihre Wirkung entfalten, wenn sie im Körper des Patienten am richtigen Ort (im richtigen Gewebe), in der beabsichtigten Weise und in der gewünschten Menge abgelesen (exprimiert) werden. Dies sind Probleme der Methoden des Gentransfers und der Vektoren (Genfähren oder Gentaxis), mit deren Hilfe die therapeutisch wirksame DNA in die Zielzellen eingebracht und kontrolliert wird. Die Vektoren entscheiden daher auf der Ebene der technischen Ausführung über Erfolg oder Mißerfolg der Gentherapie.

##### 1.1 Die somatische Gentherapie als *in vivo* und *ex vivo* (*in vitro*) System des Gentransfers

Die Übertragung von Genen in Somazellen kann entweder innerhalb oder außerhalb des Körpers, also *in vivo* oder *ex vivo* (auch *in vitro* genannt) vorgenommen werden.

Ein **Gentransfer *in vivo*** bedeutet, daß das entsprechende Gen direkt und zusammen mit geeigneten Überträgersystemen (Vektoren) in den Organismus eingebracht wird. Die Spezifität für die Zielzellen (Gewebespezifität) soll entweder erreicht werden,

indem spezifisch bindende Trägersysteme verwendet oder die DNA-Präparationen lokal in das Zielgewebe injiziert werden. Erste entsprechende Versuche zeigen jedoch, daß eine vollständige Gewebespezifität auch mit diesen Methoden nur schwer, wenn überhaupt, erreichbar sein wird, weil sich die Effekte oft nicht örtlich begrenzen lassen und die Gene auch in andere Zellen als die gewünschten übertragen (transfiziert) werden können (Schendel, Modrow 1993, S. 51).

Ein **Gentransfer ex vivo (in vitro)** bedeutet, daß dem Patienten die zu verändernden Zellen entnommen und im Reagenzglas (in vitro) vermehrt werden. In vitro erfolgt dann auch der Gentransfer. Danach werden entweder alle behandelten Zellen oder nur solche, bei denen der Gentransfer nachgewiesenermaßen erfolgreich war, in den Organismus zurückgegeben.

Ob eine Gentherapie ex- oder in vivo sinnvoll ist, richtet sich nach der Charakteristik der Erkrankung und dem Behandlungskonzept. So ist der Gentransfer ex vivo nur möglich bei Zellen, die sich ohne erhebliche Gesundheitsrisiken für den Patienten aus dem Körper isolieren lassen und in Kultur überlebens- und vermehrungsfähig sind. Das sind bestimmte Blut- und Knochenmark-, Haut- und Leberzellen sowie solche aus bösartigen Tumoren. Ein Gentransfer in vivo hat den Vorteil, daß er schneller erfolgt und mit geringerem Aufwand verbunden ist. Ein prinzipieller Nachteil des in vivo Systems ist, daß sich die Effizienz der Genübertragung nicht prüfen läßt und spezifische Gefahren dadurch entstehen, daß sich die neuen Gene auch in falsche Zellen integrieren und dadurch Schaden anrichten können. Daher ist unter den gegenwärtigen technischen Voraussetzungen der Gentransfer ex vivo sowohl spezifischer, als auch besser kontrollierbar und wird bisher häufiger angewandt als das in vivo System. Die zu behandelnden Zellen lassen sich in vitro gezielt aussuchen (selektionieren), und zwar sowohl auf einen bestimmten Zelltyp hin, als auch unter dem Aspekt eines erfolgreichen Gentransfers und der gewünschten neuen Funktionen der Zellen. So können speziell jene Zellen konzentriert und dem Patienten zurückgegeben werden, die in der beabsichtigten Weise funktionstüchtig sind.

Andererseits sind mit dem ex vivo-Verfahren bestimmte Einschränkungen verbunden, die zur Favorisierung des direkten Gentransfers (in vivo) führen könnten. Das ist zum Beispiel der Fall bei einer Gentherapie von Lungenzellen (bronchiales Epithelgewebe) im Rahmen der Behandlung der Krankheit *Zystische Fibrose*. Hier wurden Gen-Überträgersysteme in vivo direkt mit Hilfe eines Nasensprays der Lunge zugeführt. Erste Versuche mußten jedoch abgebrochen werden, da die Patienten Lungenentzündungen entwickelten. Neuere Versuche sollen inzwischen weniger schwere Nebenwirkungen aufweisen (Der Spiegel 1994, S. 217).

Auf der anderen Seite werden zur Zeit auch Behandlungssysteme entwickelt, die eine Spezifizierung der Genübertragung auf nur einen Zell- oder Gewebetyp bei in vivo

Behandlungen aus Sicherheitsgründen nicht unbedingt notwendig erscheinen lassen. Bei diesen Systemen soll die Genaktivität der neu eingebrachten Gene von außen grob steuerbar sein. Dies läßt sich zum Beispiel erreichen, indem zusätzlich zu dem therapeutischen ein Gen eingeführt wird, das bei Aktivierung durch eine chemische Substanz den Tod der Zelle einleitet, die das neue Gen enthält (sog. Suicid-Systeme). Durch die Zuführung dieser chemischen Substanz könnten im Patienten die Zellen, die die neuen Gene enthalten, zerstört und damit die Produktion des neuen Genproduktes unterbrochen werden, wenn dies notwendig werden sollte. Dieses Kontrollprinzip könnte selbstverständlich auch für Gene, die ex vivo übertragen wurden, zum Einsatz kommen. Es bleibt allerdings abzuwarten, ob die Entwicklung solcher Systeme in der benötigten Effizienz möglich sein wird.

Ein zweites Sicherheitssystem besteht darin, Vektoren zu verwenden, die nur eine vorübergehende Anwesenheit des eingeschleusten Gens in den behandelten Zellen erwarten lassen. Hier ließe sich abschätzen, wie lange das entsprechende Protein produziert (exprimiert) wird. Damit könnten mögliche Risiken und negative Wirkungen begrenzt werden.

Bei gentherapeutischen Behandlungsformen von Krebs, die auf spezifischen Immunisierungsstrategien beruhen, läßt sich die Aktivität der veränderten Zellen dadurch begrenzen, daß sie bestrahlt werden, bevor der Patient sie zurückerhält. Sie produzieren das therapeutisch wirksame Genprodukt dann nur noch zwei bis drei Wochen lang und sterben danach ab.

Bei der Verwendung von Zellen, die in relativ kurzen Abständen im Körper erneuert werden, wie viele Blutzellen, sind die Effekte eines Gentransfers schon auf natürliche Weise durch die begrenzte Lebensdauer der Zellen limitiert.

## **1.2 Der Vergleich gentherapeutischer Methoden mit anderen Therapieformen**

Die Erfahrung aus Tierversuchen und ersten klinischen Versuchen am Menschen sind vor allem für klinische Mediziner Beweis genug, daß die Sicherheit bisher entwickelter Systeme bereits groß genug ist, um erste Heilversuche insbesondere an schwerstkranken Patienten zu rechtfertigen (Mertelsmann et al. 1994, S.77, siehe Anhang III). Mediziner sind angesichts des Leides schwerstkranker Menschen und ihres Auftrages, heilend einzugreifen, sogar moralisch verpflichtet, jede Therapie schnellstmöglich zu entwickeln und anzuwenden, die Leben retten und Leid vermindern kann, sobald die Methoden ein ausreichendes Maß an Sicherheit erreicht haben und eine Gefährdung anderer Menschen unwahrscheinlich ist. Dieses Maß an Sicherheit ist nach Ansicht einiger Mediziner bei gentherapeutischen Methoden und Gentransfersystemen schon erreicht. Erprobte Sicherheitsbestimmungen, die bei jeder

Entwicklung neuer Therapieformen und klinischen Prüfungen gelten, greifen daher auch bei der Entwicklung der Gentherapie. Die Gentherapie wird daher häufig als eine Erweiterung bisheriger Therapieformen bezeichnet, wobei die Risiken vergleichbar seien mit anderen **medikamentösen Substitutionstherapien, Organtransplantationen** und/oder **Impfstoffanwendungen** (Position des VCI, siehe Anhang VI).

Auch bei der Gentherapie werden fehlende oder defekte Körperfunktionen wiederhergestellt, also auf ihre Normalform zurückgebracht. Dies geschieht im Falle der Gentherapie nicht, wie bei bisherigen medikamentösen **Substitutionstherapien**, durch die ständige Einnahme oder Injektion eines therapeutisch wirksamen Stoffes, sondern durch die Produktion dieses Stoffes im Körper des Patienten selbst. Die notwendigen Produktionsinformationen liefern dabei die in den Körper des Patienten übertragenen Gene. Das entsprechende therapeutisch wirksame Gen kann daher bei der Gentherapie als eine Art Medikament angesehen werden, das die Funktionen der menschlichen Zellen unterstützt oder ergänzt (Enquête-Kommission 1987, S. 178 und 183).

In Analogie zu einer **Organtransplantation** soll dabei in Zukunft ein defektes oder fehlendes Element des Körpers (ein Gen) exakt ausgetauscht oder ausgeschaltet werden können. Obwohl dieser exakte Genaustausch bisher nicht möglich ist, kann die Produktion des gewünschten Genproduktes jetzt schon dadurch erreicht werden, daß die funktionstüchtigen Gene zusätzlich (additiv) zu den mutierten körpereigenen Genen in Zellen des Patienten eingebracht werden. Dabei haben bisher meist gentechnisch umgebaute Viren die Aufgabe, die therapeutisch wirksamen Gene zusammen mit Resten ihrer eigenen DNA in die Zellen des Patienten einzuschleusen. Zur Züchtung und Anwendung von Viren beim Menschen liegen aus der Verwendung von Viren als **Impfstoffe** Erfahrungen vor.

Der ex vivo Weg der Gentherapie erinnert an die Transplantation von Zellen oder Geweben, bei der dieselbe Person Spender und Empfänger ist (z.B. Verpflanzung von Hautgewebe).

Wenn sichergestellt werden kann, daß das neu eingebrachte Gen nicht weiter vererbt wird, bleibt auch die Gentherapie, wie andere Therapieformen, auf das Individuum begrenzt.

Gegen die Vergleichbarkeit der Gentherapie mit anderen therapeutischen Behandlungsformen wird z.B. eingewandt, daß ein Unterschied der Gentherapie zu normalen medikamentösen **Substitutionstherapien** in der beabsichtigten Wirkungsdauer der Therapie gesehen werden kann. Im Idealfall könnte schon nach einer gentherapeutischen Behandlung das neue Gen auf Dauer im Körper des Patienten "installiert" sein und die Produktion seines Genproduktes (der therapeutisch wirksamen Substanz) für das ganze Leben des Patienten aufrecht erhalten bleiben. Außerdem wird bei medi-

kamentösen Therapien nicht absichtlich in den Bauplan (die Gene und deren Regulation) von Patientenzellen eingegriffen, sondern dies höchstens als Nebenwirkung in Kauf genommen. Die Gentherapie unterscheidet sich daher in ihrer beabsichtigten zeitlichen und strukturellen **Eingriffstiefe** von bisherigen medikamentösen Substitutionstherapien.

Auch kann die Gentherapie mit einer **Organ- oder Gewebetransplantation** nur bedingt verglichen werden, weil die bisherige Transplantation eines Organes oder Gewebes meist auf einen bestimmten Ort im Körper beschränkt ist. Bei Gentherapieversuchen, die in vivo vorgenommen werden, ist beim momentanen Stand der Technik nur grob voraussagbar, in welches Gewebe oder Organ das Gen eingebracht (transfiziert) wird. Bei der Verwendung von Teilen von Retroviren als Genfähren (retroviralen Vektoren) können beispielsweise eine ganze Reihe von Geweben oder Teilen von Organen transfiziert werden, bei denen sich Zellen in Teilung befinden. Anders als bei Organtransplantationen ist demnach bei Gentherapien in vivo (im Gegensatz zu Gentherapien ex vivo) zur Zeit nicht vollständig auszuschließen, daß die "transplantierten" Gene auch in Zellen integriert werden, für die sie nicht bestimmt sind (z.B. in Fortpflanzungszellen des Patienten). Gentherapeutische Maßnahmen gegen Krankheiten des Gehirnes von Menschen (z.B. gegen Hirntumore und Neurotransmittermangel bei Alzheimer und Parkinson) bedürften zusätzlich auch noch einer Nutzen/Risiko-Abwägung einer möglichen Persönlichkeitsveränderung des Patienten (SysTA Biomed 1994, S. 328).

Auch die Übertragung von Erfahrungen mit **Impfstoffanwendungen** auf die Gentherapie ist zumindest bei der Behandlung von Menschen, deren Immunsystem nicht mehr intakt ist, nur bedingt möglich.

Einige Wissenschaftler geben daher zu bedenken, daß das Risikopotential der Gentherapie nicht immer mit bisherigen Therapieformen vergleichbar ist. In diesem Zusammenhang ist zu betonen, daß auch bei schwerstem Krankheitszustand und Leid der Patienten eine Gentherapie nur dann zu rechtfertigen ist, wenn eine Verschlechterung des Zustandes des Patienten durch die Therapie und eine Gefährdung anderer Menschen mit größtmöglicher Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Gerade die Beurteilung der Gefahren für den Patienten und seine Umwelt bzw. die Beurteilung des Grades der Sicherheit der bisher entwickelten und teilweise schon im Einsatz befindlichen Systeme des Gentransfers (Vektoren) ist aber ein Streitpunkt zwischen Experten.



## **2. Die Diskussion der Sicherheit von Systemen des Gentransfers und von Vektoren**

### **2.1 Systemübergreifende Probleme**

Obwohl insbesondere in den USA erste gentherapeutische Heilversuche in vivo bereits durchgeführt werden, sehen einige Grundlagenforscher eine Reihe von ungeklärten Problemen im Zusammenhang mit den bisher zur Verfügung stehenden Gentransfersystemen. Diese seien zumindest vor einem in vivo Einsatz gentherapeutischer Methoden zu klären, um eine endgültige Abschätzung der Risiken für die Patienten vornehmen zu können (Schendel, Modrow 1993, S. 51, siehe Anhang IV). Andere halten die bisherigen Methoden der Gentherapie für grundsätzlich ungenügend erforscht und erkennen vor allem bei der Verwendung von Virusvektoren Gefahren für den Patienten und andere Menschen (Tappeser, Panholzer 1993, S.50, siehe Anhang V).

Als Gefahr für den Patienten werden dabei die mögliche Entstehung von anderen Krankheiten (im Extremfall von Krebs) gesehen. Diese könnten dadurch ausgelöst werden, daß bei den bisherigen Gentransfermethoden die neuen Gene meist in mehrfacher Kopienzahl an beliebige Stellen der Erbsubstanz der Patientenzellen eingebracht werden. Dadurch könnte die vorher korrekte Regulation zelleigener Gene gestört werden. Außerdem sei bis heute die Regulation der neu eingebrachten Gene nicht befriedigend im Griff. Zwar würden die neuen Gene vom Körper der Patienten meist abgeschaltet oder zerstört, es sei aber nicht sicher, daß nicht auch einmal zuviel des therapeutisch wirksamen Stoffes produziert werden könnte. Auch dadurch seien Schädigungen des Patienten möglich (Schendel, Modrow 1993, S. 53).

Gefahren für andere Menschen könnten dann entstehen, wenn die Genfähren (Vektoren), mit denen die neuen Gene in den Körper von Patienten bzw. dessen Zellen eingeschleust werden, im Körper des Patienten zur Vermehrung gelangen könnten und dann über ihn in der Umwelt verbreitet würden. Diese Gefahr sei bei den heute verwendeten Virusvektoren (Genfähren) oft nicht mit Sicherheit auszuschließen. Es wird argumentiert, daß trotz mehrerer ineinandergreifender Sicherheitssysteme, die verhindern sollen, daß sich die gentechnisch verstümmelten Transportviren (vgl. Kapitel III. 2.2) wieder zu vollständigen Viren zusammensetzen können, die große Rekonstruktionsfähigkeit von Viren diese Systeme überwinden könnte (Tappeser, Panholzer 1993, S.48; Artel et al. 1994, S.476). Die Wahrscheinlichkeit, mit der solche Rekonstruktionen stattfinden können, ist sehr umstritten.

Andererseits könnten die Restrisiken für die Umwelt bzw. für nicht beteiligte Menschen durch den Verzicht auf veränderte Viren als Vektoren vermieden werden. Zur

Beleuchtung der Vielfalt der zur Zeit in der Erforschung befindlichen Vektorsysteme sollen im folgenden Kapitel diese mit ihren Vor- und Nachteilen, Einsatzmöglichkeiten und Risikopotentialen kurz vorgestellt werden.

## **2.2 Vergleichende Risikobeurteilung verschiedener Systeme des Gentransfers**

Kriterien für eine Bewertung der Eignung von Gentransfersystemen sind die zu erwartende Effektivität der Genübertragung, die im allgemeinen möglichst hoch sein soll, und die Frage, ob die transferierte DNA für den therapeutischen Zweck ausreichend stabil in die Erbsubstanz der Zielzelle (Chromosomen) integriert und dort abgelesen (exprimiert) wird. Dabei muß unterschieden werden zwischen einer chromosomalen und einer extrachromosomalen Aufnahme in das Genom. Im ersten Fall werden die übertragenen Nukleinsäuren integraler Bestandteil der Erbsubstanz, im zweiten Fall liegen sie als eigenständige Elemente im Zellkern vor. Einige der gegenwärtig eingesetzten Formen des Gentransfers führen zu einer vorübergehenden Einbringung von Genen in den Zellkern der Zielzellen (Transfektion), ohne daß die übertragenen Gene fest in die Chromosomen eingebaut werden. Dies ist unter Sicherheitsüberlegungen günstig, da dadurch Gene der Zelle nicht durch den Einbau der neuen Gene unterbrochen oder in ihrer Regulation gestört werden können. Oft werden diese extrachromosomalen neuen Gene aber abgebaut und verlieren dadurch mit der Zeit an Wirkung (transiente Expression).

Werden die neuen Gene jedoch in die Erbsubstanz der Zellen integriert, dann können sie am Integrationsort Veränderungen (Insertionsmutagenesen) an zelleigenen Genen auslösen. Dadurch können entweder normale Genfunktionen ausfallen oder schädliche in Gang gebracht werden. Ein Beispiel ist die dadurch mögliche Aktivierung sogenannter Onkogene (Krebsgene). Die Gefahr der Insertionsmutagenese besteht nicht, wenn die übertragenen Gene in extrachromosomalen Elementen vorliegen.

Darüber hinaus verändern manche Zellen, die für einen Gentransfer entnommen und nach der Behandlung in den Körper zurückgegeben werden, ihre Eigenschaften, indem sie sich beispielsweise nicht mehr in denselben Geweben ansiedeln, aus denen sie stammen. Dadurch kann eine Gentherapie weniger effizient und weniger spezifisch werden.

Auch immunologische Reaktionen können auftreten, und zwar prinzipiell immer dann, wenn Moleküle in den Organismus eingebracht oder zum Zweck der Therapie von ihm produziert werden, die nicht identisch mit den körpereigenen sind. Solche körperfremden Substanzen sind zum Beispiel die viralen Vektoren, aber auch Proteine menschlichen Ursprungs, die im Rahmen der Gentherapie synthetisiert werden

sollen, in ihrer Zusammensetzung jedoch nicht vollständig mit denen des behandelten Individuums übereinstimmen (Gene anderer Menschen).

Welche Vektorsysteme derzeit Verwendung finden und welche Vor- und Nachteile mit ihnen verbunden sind, wird im folgenden dargestellt.

### 2.2.1 Retrovirus-abgeleitete Vektoren

Genübertragungssysteme, die sich von Retroviren ableiten, werden am häufigsten verwendet, sind am besten erforscht und bringen von allen getesteten Systemen die Gene am besten in die Patientenzellen ein (höchste Transfektionseffizienz). Sie werden daher am ausführlichsten diskutiert.

**Eigenschaften von Retroviren:** Die Gruppe der Retroviren umfaßt Viren mit den verschiedensten pathogenen Mechanismen. Die Auswirkungen einer Retrovirusinfektion beim Menschen erstrecken sich von nicht registrierbaren, harmlosen Verläufen bis hin zu Infektionen mit tödlichem Ausgang wie Tumorerkrankungen (Leukämie) oder AIDS (HI-Virus). Bei allen Retroviren besteht das Genom aus einzelsträngiger RNA (Ribonukleinsäure). Sie enthält die genetische Information für Strukturproteine, die Kern und Hülle aufbauen, für bestimmte Enzyme (Protease, Reverse Transkriptase, Integrase) und das Oberflächenprotein, das dem Virus die Spezifität für ganz bestimmte Zelltypen verleiht.

**Bewertung von retroviralen Vektoren:** Mit den von Retroviren abgeleiteten Genübertragungssystemen sind bisher die meisten experimentellen Erfahrungen gesammelt worden. Sie kommen auch am häufigsten zum Einsatz, um transgene Tiere zu erzeugen.

Vorteile sind, daß sich hohe Transfektionsraten erzielen lassen, sich die Gene stabil in die Chromosomen der behandelten Zellen integrieren und daß damit die Grundlage für eine stabile und langanhaltende Synthese der therapeutischen Proteine geschaffen wird. Erfolgt die Gentherapie ex vivo, lassen sich diese Parameter gut bestimmen, wodurch eine Kontrolle der Übertragungseffizienz (Transfektionseffizienz) möglich wird. Nach Rückgabe der Zellen in den Körper kann allerdings die Genexpression erheblich sinken. Die Gründe dafür sind noch nicht bekannt. Die Spezifität für bestimmte Zielzellen kann bei diesen Vektoren eventuell dadurch erreicht werden, daß die Virusoberflächen mit Rezeptoren ausgestattet werden, die bewirken, daß die Viren nur ganz bestimmte Zellen befallen und andere nicht.

Zu den Nachteilen gehört, daß die Länge der auf diesem Weg übertragbaren DNA begrenzt ist (auf circa 10.000 Basenpaare) und für viele für die Therapie beim Menschen in Frage kommenden Gene zu kurz ist, vor allem dann, wenn gleichzeitig die Sequenzen für die Regulation der Genaktivität mitübertragen werden sollen. Ein



weiterer Nachteil ist darin zu sehen, daß sich retrovirale Gene nur in Zellen einbauen können, die sich gerade in Teilung befinden. In ruhende Zellen, wie alle Nervenzellen und die der meisten Organe, können daher mit diesen Vektoren keine neuen Gene stabil in die Erbsubstanz eingebaut werden.

Zu den Risiken des Systems gehört, daß die Integration der fremden DNA in die Erbsubstanz der zu therapierenden Zelle nicht ortsgenau (sequenzspezifisch) ist, sondern an vielen Stellen erfolgen kann. Über eine Insertionsmutagenese könnten dadurch zelluläre Krebsgene aktiviert oder solche Gene inaktiviert werden, die die Tumorentstehung unterdrücken. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, daß die absichtlich verstümmelten Vektorviren ihre Defekte durch passende DNA-Stücke, die in Zellen vorliegen, wieder reparieren und damit sich wieder vollständige, humanpathogene Viren bilden könnten.

Bei der Diskussion der Gefahr der Entstehung von Tumoren durch den Vektor müssen verschiedene Aspekte beachtet werden. Nach Mertelsmann ist die Wahrscheinlichkeit sehr gering, da die Krebsentstehung ein Vielschritt-Ereignis ist, bei dem normalerweise Mutationen an mehreren Stellen der Erbsubstanz stattfinden müssen, bevor die Zelle entartet. Dennoch ist das Risiko einer Insertionsmutagenese schwer abzuschätzen. Zwar ist die Wahrscheinlichkeit, daß wichtige Regulationseinheiten mehrerer Krebsgene in Zellen getroffen werden, extrem gering, zufällige Integrationsereignisse können möglicherweise aber auch zu unvorhersehbaren Auswirkungen für die Zelle und damit für den Gesamtorganismus führen (Schendel, Modrow 1993, S. 52).

Denkbar wäre auch, daß sich über Vektorpräparationen, die mit intakten Viren verunreinigt sind, vermehrungsfähige Partikel bilden. Kontaminationen der Vektorpräparate mit kompletten Viren führten bei einigen gentherapierten Affen dazu, daß sie an Krebs erkrankten. Vermehrungsfähige Viren könnten aber auch durch die bereits oben erwähnten Rekombinationsereignisse zwischen der Erbsubstanz der Vektoren und der Zelle entstehen. Das menschliche Genom enthält nämlich zu etwa 0,6 Prozent DNA, die von Retroviren stammt und sich im Verlauf der Evolution erhalten hat. Diese defekten endogenen Retroviren sind selbst nicht infektiös. Sie können allerdings im Genom wandern und sich dort an verschiedenen Stellen integrieren (Transposonverhalten). Ob sie auf diese Weise zur Krebsentstehung beitragen, wird derzeit untersucht. Vorstellbar wäre, daß bei entsprechender Kombination mit retroviralen Vektoren die Erbinformation in einer Weise vervollständigt wird, die replikationsfähige Viren entstehen läßt. Die Wahrscheinlichkeit, daß sich auf diesem Weg intakte Viren formieren, ist um so größer, je stärker sich die für die Vektorkonstruktion verwendeten Viren und die endogen vorhandenen ähneln. Die Ähnlichkeiten der endogenen Retroviren des Menschen mit den Leukämieviren der Maus, aus denen hauptsächlich die zur Zeit verwandten retroviralen Vektoren hergestellt sind, seien gering, und könnten weiter reduziert werden (Mertelsmann et al. 1994, S. 67/68).

**Lebenszyklus von Retroviren.** Wenn Retroviren eine Wirtszelle infizieren, wird ihre einzelsträngige RNA mit Hilfe der Reversen Transkriptase in doppelsträngige DNA, wie sie in den Zellen der höheren Organismen vorliegt, umgeschrieben (Reverse Transkription). Nach dem Umschreibungsprozeß hat das virale Genom identische Sequenzfolgen an beiden Enden des Doppelstranges, die als long terminal repeat (LTR-Region) bezeichnet werden und genregulatorische Funktionen einschließen. Über die LTR-Regionen erfolgt auch der Einbau der viralen DNA in die der Wirtszelle, und zwar weitgehend an beliebiger Stelle auf den Chromosomen. Einzige Voraussetzung ist, daß die zelluläre DNA an der Integrationsstelle aufgelockert ist, eine Bedingung, die nur in sich teilenden Zellen erfüllt ist. Darum können Retroviren ruhende Zellen nicht infizieren.

Ist das Genom des Virus in die Chromosomen der Wirtszelle eingebaut, können virale Proteine und Nukleinsäuren synthetisiert und damit neue Viren gebildet werden. Ein Verpackungssignal mit der Bezeichnung psi leitet die Verpackung der neuen viralen RNA in die Hülle ein. Sind komplette, infektiöse Partikel entstanden, werden sie in einem Knospungsprozeß freigesetzt. Damit löst die extrazelluläre Phase des Lebenszyklus die intrazelluläre ab. Dieser in groben Zügen geschilderte Ablauf ist für alle exogenen autonomen Retroviren ähnlich.

Dem extrazellulären Stadium der Retroviren, das die Interaktion viraler Hüllproteine mit Oberflächenkomponenten ihrer Wirtszellen einschließt, kommt für ihre Verwendung als Vektoren große Bedeutung zu. Sie können ein enges oder ein breites, sogar artübergreifendes Wirtsspektrum besitzen wie bestimmte Leukämieviren, die für Mäuse pathogen sind, sich aber auch an Zellen von Mensch oder Vogel binden. *Von solchen murinen Leukämieviren (MLV) leiten sich die meisten derzeit verwendeten retroviralen Vektorsysteme ab.*

**Retroviren für die Genübertragung.** Außer den autonomen Retroviren gibt es die Gruppe der defekten Retroviren, die von sich aus keine Nachkommen bilden können, da Teile der dafür notwendigen Erbinformation verloren gegangen sind. Damit infektiöse Partikel entstehen, muß die Wirtszelle gleichzeitig mit einem autonomen Retrovirus infiziert sein, das die fehlenden Funktionen ergänzt und als "Helfervirus" bezeichnet wird. Retrovirale Vektorsysteme, die in der Gentherapie zum Einsatz kommen, ähneln dem Genom der defekten Retroviren. Im einfachsten Fall bestehen sie aus dem zu übertragenden Nukleinsäureabschnitt, der zu beiden Seiten von LTR-Regionen flankiert wird. Diese werden sowohl für die Integration der fremden Erbsubstanz gebraucht als auch für die Regulation der Genexpression. In neueren Entwicklungen wird das Fremdgen jedoch nicht unter die Kontrolle der viralen Steuerelemente gestellt, sondern unter die von eigenen, häufig zelltypischen Regulationseinheiten. In diesen Fällen werden auch Teile der LTR-Regionen zerstört, nur die Stelle für den Beginn der Reversen Transkription bleibt erhalten, ebenso die Integrationsfunktion und die Region psi, die für die Wechselwirkung der RNA mit bestimmten Proteinen bei ihrer Verpackung in neue Viruspartikel notwendig ist.

Die retroviralen Vektoren entstehen in sogenannten *Verpackungszelllinien*. Dazu wird das defekte Retrovirus, das das therapeutische Gen enthält, mit Helferviren in einer Zellkultur zusammengebracht. Das Helfervirus ist ebenfalls gentechnisch verändert: Ihm fehlen die Signaleinheit psi und weitere Stücke seiner Gene, so daß seine RNA nicht mehr zu infektiösen Partikeln verpackt werden kann. Auf diese Weise soll verhindert werden, daß die retroviralen Vektoren wieder zu vollständigen Viren rekombinieren und sich eigenständig vermehren. Das Helfervirus liefert nämlich lediglich die genetische Information für bestimmte Strukturproteine. Durch die gemeinsame Kultivierung bilden sich Retroviren, die das therapeutische Gen enthalten und Zielzellen infizieren. Sie können sich aber darin nicht vermehren, weil ihre Erbsubstanz inkomplett ist: Die notwendige Ergänzung müßte von den Helferviren kommen, deren RNA im Normalfall nicht verpackt wird.

Neu entwickelte retrovirale Vektoren vermindern die Gefahr einer Rekombination intakter Viruspartikel und einer unbeabsichtigten Aktivierung zelleigener Gene dadurch, daß ihnen mehrere Genstücke gleichzeitig fehlen (Deletionen) (Faustinella et al. 1994, S. 307). Um zu vollständigen Viren zurückzukommen, müssen bei diesen Vektoren 3-4 Rekombinationsereignisse stattfinden. Dies ist sehr unwahrscheinlich, jedoch insbesondere bei hohen Virusdichten in Verpackungszelllinien mit Virushomologien auf Dauer nicht auszuschließen (Artel et al. 1994, S. 476). Hat sich erst einmal ein vollständiges Virus gebildet, dann kann sich dieses in den verwendeten Helferviruszelllinien leicht ausbreiten und bei Gentherapien auch in den Patienten gelangen.

**Welche Konsequenzen hätte die Bildung kompletter Retroviren während einer somatischen Gentherapie?** Denkbar wäre, daß die Keimbahn infiziert würde. Dieses Risiko ist nach Einschätzung von Mertelsmann beim gegenwärtigen Erkenntnisstand jedoch als außerordentlich gering einzuschätzen. So seien bisher keine Gene von Viren in Zellen der Keimbahn nachgewiesen worden, die mit einer Infektion in Verbindung gebracht werden könnten, obwohl diese zu den normalen Umweltbedingungen gehörten oder, wie z.B. im Fall von AIDS-Patienten, mannigfaltig im Körper von erkrankten Menschen vorliegen. Auch gelange im Rahmen von Bluttransfusionen oder Transplantationen fremde DNA direkt in den Körper, ohne daß deren Integration in Zellen der Keimbahn beobachtet worden sei. Bei Frauen lasse sich dieses mögliche Risiko außerdem durch eine einmonatige Empfängnisverhütung "praktisch auf Null reduzieren" (Mertelsmann et al. 1994, S. 16 u. 77).

Nach Tappeser könnten durch Rekombination neu entstandene Viren aber auch eine veränderte Pathogenität und Wirtsspezifität aufweisen und sich außerdem über Körperflüssigkeiten, Exkremente oder über die Luft ausbreiten und andere Menschen infizieren (Tappeser/Panholzer 1993, S.30). Ob die zur Zeit häufig verwendeten Leukämieviren der Maus jedoch auch beim Menschen Tumore induzieren können, ist unbekannt. Es sei relativ schwierig abzuschätzen, welches Krankheitspotential ein solches rekombinantes Virus hätte. Die existierenden Testsysteme seien jedoch empfindlich genug, replikationsfähige Viren in einer Konzentration nachzuweisen, die vermutlich unter der liege, die im Menschen eine Erkrankung hervorrufen könne (Mertelsmann et al. 1994, S. 69).

## 2.2.2 Andere virale Vektorsysteme

### Adenoassoziierte Viren

**Eigenschaften:** Die adenoassoziierten Viren (AAV) gehören zur Familie der Parvoviren, deren Genom aus einzelsträngiger DNA besteht. Eines der charakteristischen Merkmale der AAV ist, daß sie defekt sind und sich nur in Gegenwart von Helferviren vermehren können. Es gibt Gruppen mit Wirtsspezifität für den Menschen, die

Zellen des blutbildenden Systems und des Blutes infizieren. Sie rufen nach heutigem Kenntnisstand keine Erkrankungen hervor, wurden jedoch in einem möglichen Zusammenhang mit verfrühten Schwangerschaftsabbrüchen diskutiert (Mertelsmann et al. 1994, S. 74). Adenoassoziierte Viren integrieren ihre DNA wie die Retroviren stabil in die Erbsubstanz ihrer Wirtszellen. Dies geschieht beim unveränderten Wildtyp des Virus ortsspezifisch in eine bestimmte Region auf Chromosom 19, die genetisch nicht aktiv ist, jedoch mit B-Zell-Leukämien in Verbindung gebracht wurde (Mertelsmann et al. 1994, S. 73). Ist diese Integrationsstelle jedoch von einem Parvovirus bereits besetzt, wie bei einem großen Prozentsatz der menschlichen Population, dann tendiert dieses Virus zu sequenzunabhängiger Integration und chromosomalen Umlagerungen (Schendel, Modrow 1993, S. 16). Der zum Vektor veränderte Virus integriert jedoch nicht mehr ortsspezifisch auf Chromosom 19. Er hat durch die gentechnische Verstümmelung (wahrscheinlich durch die Entfernung des rep Proteins) seine Ortsspezifität verloren (Gansbacher, pers. Mitteilung). Aufgrund der weitgehenden Apathogenität und der vermuteten ortsgebundenen Integration der DNA wurden AAV-abgeleitete-Vektorsysteme für gentherapeutische Ansätze entwickelt. Um auf der Basis von AAV Genüberträgersysteme herzustellen, ist es wie bei den Retroviren notwendig, Verpackungszelllinien zu verwenden. Als Helferviren dienen Adeno- oder Herpesviren.

**Bewertung der AAV-abgeleiteten Vektoren:** Dieses Gentransfersystem ist nicht so gut untersucht und praktisch erprobt wie das auf retroviraler Grundlage. Für einen Einsatz in der Gentherapie bietet es jedoch verschiedene Vorteile: Die AAV sind nicht humanpathogen, die zu übertragende Erbsubstanz wird stabil in das Genom integriert. AAV können auch ruhende Zellen infizieren. Es gibt keine parvovirusähnlichen Sequenzen in der DNA des Menschen, es sei denn, der Mensch wurde bereits schon einmal mit einem solchen Virus infiziert. Damit ist das potentielle Risiko einer Rekombination der Vektoren mit humaner DNA zu vermehrungsfähigen Partikeln verringert.

Nachteile sind, daß die Effizienz der Genübertragung niedrig ist und nur relativ kurze DNA-Abschnitte übertragen werden können (4000 Basenpaare lang). Weitere Forschungsarbeiten könnten zeigen, ob sich die genannten Nachteile ausgleichen lassen.

### **Adenovirale Vektorsysteme**

Mit den von Adenoviren abgeleiteten Vektoren gibt es schon klinische Erfahrungen: Sie sind u.a. in vivo zur Behandlung der *Zystischen Fibrose* eingesetzt worden. Ebenfalls diskutiert wird eine Behandlung des angeborenen Lungenemphysems, eine Erkrankung der Lunge mit teilweise schwerem Verlauf, die auf den Mangel eines Proteins, des alpha-1-Antitrypsin, zurückzuführen ist. Adenovirus-abgeleitete Vektoren integrieren die übertragene Nukleinsäure im Gegensatz zu den zuvor genannten



viralen Systemen nicht in die Erbsubstanz einer Zelle, sondern sie bleibt außerhalb der Chromosomen im Zellkern. Dort ist sie allerdings nicht über längere Zeit stabil, sondern wird allmählich eliminiert und damit therapeutisch unwirksam.

**Eigenschaften:** Bei den Adenoviren ist die genetische Information in Form einer doppelsträngigen DNA gespeichert. Unter denen, die menschliche Zellen infizieren, gibt es sowohl apathogene, als auch solche, die mit Fieber verbundene Erkrankungen der Atemwege oder Bindehautentzündungen hervorrufen. In ihren natürlichen Wirten scheinen sie nicht krebsverursachend zu sein. In anderen Tierarten können sie malignes Zellwachstum auslösen. Sie werden durch Tröpfcheninfektion übertragen und infizieren bevorzugt Zellen des Hals-Nasen-Rachenraumes und der Lunge. Aufgrund dieser Zellspezifität ist es naheliegend, bei den von ihnen abgeleiteten Vektoren vor allem an Gentherapien von Erkrankungen zu denken, die sich in diesen Geweben manifestieren.

**Bewertung von adenoviralen Vektoren:** Auch die auf Adenoviren basierenden Genübertragungssysteme werden aus Sicherheitsgründen so hergestellt, daß gendefekte Viren verwendet werden, aus denen mit Hilfe von Helfer- oder Verpackungszellen infektiöse, aber vermehrungsunfähige Vektoren entstehen sollen. Die Replikationsfähigkeit wird aber offenbar nicht in allen Zellen vollständig ausgeschaltet, ein geringer Grad der Vermehrung kann also in infizierten Zellen möglich sein (Mertelsmann et al. 1994, S. 72). Erste gentherapeutische Versuche mußten abgebrochen werden, da einige Patienten Lungenentzündungen entwickelten.

Einer der Vorteile des Systems ist, daß Adenoviren auch Zellen infizieren, die sich nicht in Teilung befinden. Die übertragenen Gene können etwa 10.000 Basenpaare lang sein. Aufgrund der extrachromosomalen Lokalisierung der Vektoren ist das Risiko einer Insertionsmutagenese ausgeschlossen. Die Spezifität der Vektoren für bestimmte Gewebe ist relativ hoch.

Als Nachteil wird gesehen, daß die extrachromosomale DNA nach einiger Zeit aus dem Genom der behandelten Zelle eliminiert wird und daher der therapeutische Effekt nur vorübergehend sein kann. Für die Erprobungsphase einer Gentherapie kann dies zwar günstig sein, weil damit nicht vorhersehbare Nebenwirkungen ebenfalls zeitlich begrenzt würden. Für die Behandlung würde es aber bedeuten, daß sie öfter wiederholt werden müßte. Ein weiterer Nachteil ist, daß adenovirale Proteine offenbar Immunreaktionen hervorrufen. Die gegen den jeweiligen Adenovirus-Typ gebildeten Antikörper schützen vor einer neuen Infektion und bewirken dadurch möglicherweise, daß eine mehrfache Applikation der Vektorpräparation unwirksam bleibt. Derzeit wird an einer zweiten Generation von Adenovirus-abgeleiteten Vektoren gearbeitet, die die immunogenen Proteine nicht mehr enthält. Weitere genetische Veränderungen zielen darauf ab, eine von Adenoviren allgemein ausgelöste Unter-

drückung der Proteinbiosynthese in der Wirtszelle ebenso zu verhindern wie die Expression bestimmter Eiweißmoleküle mit toxischer Wirkung. Ein weiterer Nachteil ist die leichte Übertragung von rekombinierten Adenoviren auf andere Menschen (Tröpfcheninfektionen).

### **Herpes-Virus-abgeleitete Vektoren**

Genübertragungssysteme, die auf Herpes-simplex-Viren basieren, werden vor allem für die Gentherapie von Zellen des Gehirns diskutiert, und zwar für erbliche Erkrankungen wie das Lesch-Nyhan-Syndrom (Anhang I) ebenso wie für Tumore des Gehirns und das Parkinson-Syndrom. Bisher liegen experimentelle Ergebnisse aus Tierversuchen vor, die gezeigt haben, daß ein Gentransfer, verbunden mit der Expression des entsprechenden Proteins, möglich ist.

**Eigenschaften:** Herpes-simplex-Viren (HSV) sind DNA-Viren und humanpathogen. Eines ihrer Charakteristika ist, daß sie nach der initialen Infektion, die oft auch ohne Symptome verläuft, lebenslang in bestimmten Organen des Individuums überdauern (persistieren). Sie bleiben dort in einem Ruhe-Stadium (Latenz), aus dem sie durch äußere oder innere Einflüsse zum Übergang in die aktive (lytische) Phase gebracht werden können. Diese ist mit einer Freisetzung von infektiösen Partikeln und häufig auch mit Krankheitssymptomen verbunden. Der Typ HSV 1, dessen Genom als Grundlage für die Vektoren dient, ruft vor allem im Schleimhautbereich des Mundes bläschenhafte Ausschläge hervor, die hohe Konzentrationen des Virus enthalten. Außer den Gewebezellen des Mundes werden Nervenzellen infiziert, die diesen Hautbereich innervieren. In ihnen entstehen jedoch keine infektiösen Partikel. Die Eigenschaft, auch Nervenzellen (Neurone) zu infizieren, verbunden mit der Tatsache, daß die befallenen Nervenzellen auch bei lebenslanger Persistenz normalerweise keinen Schaden nehmen, lassen von HSV abgeleitete Vektoren als ideale Agentien erscheinen, um Neurone gentherapeutisch zu behandeln. Sie werden mit defekten Viren und unter Einsatz von Helferzellen hergestellt.

**Bewertung der Herpesviren als Vektoren:** Zu den Vorteilen des Systems gehört die Spezifität der Vektoren für Neurone, die verbunden ist mit der Fähigkeit, ruhende Zellen zu infizieren.

Die DNA wird nicht in die Erbsubstanz integriert, sondern bleibt extrachromosomal im Zellkern. Damit besteht kein Risiko für eine Insertionsmutagenese. Dennoch ist die neue DNA im Zellkern stabil. Es können relativ lange Nukleinsäureabschnitte (bis zu 30.000 Basenpaare) übertragen werden.

Unter Sicherheitsaspekten ist eine Voraussetzung, um das System klinisch einzusetzen, daß die defekten Herpesviren keine krankheitsauslösenden Eigenschaften mehr haben. Denn bei Neugeborenen oder immunabwehrgeschwächten Personen

können aktive Virusphasen, verbunden mit Krankheitssymptomen, auch im Gehirn auftreten. Ein Nachteil ist, daß bei den bisher produzierten Sicherheits-Vektoren gelegentlich auch noch solche Krankheitssymptome zu beobachten sind. Auch konnten bisher keine völlig vermehrungsunfähigen HSV hergestellt werden. Ein weiterer Nachteil ist die Tatsache, daß 90 % der erwachsenen Bevölkerung mit HSV 1 infiziert ist und damit das Risiko der Rekombination mit endogener Virus-DNA zu vermehrungsfähigen Partikeln nicht ausgeschlossen werden kann.

### **Andere virale Vektoren**

Für eine Reihe anderer Viren, darunter das Epstein-Barr-Virus, das Simian-Virus 40 und das Vaccinia-Virus, wird ein Einsatz als Vektoren erwogen oder auch schon erprobt. Die bisher vorliegenden Studienergebnisse sind jedoch nicht ausreichend, um sie als Grundlage für eine konkrete Diskussion über Effektivität und Vor- und Nachteile zu verwenden.

## **2.3 Nicht-virale Vektorsysteme**

Genübertragungssysteme, die nicht auf Viren basieren, sind zum einen rezeptor- und liposomenvermittelt (siehe unten), zum anderen sind es physikalisch-chemische Methoden wie der Partikel-Beschuß, die Elektroporation oder die Mikroinjektion von nackter DNA.

### **2.3.1 Rezeptorvermittelter Gentransfer**

Rezeptoren und Liganden sind bestimmte Proteine, die auf der Oberfläche von Zellen vorhanden sind und die die Kommunikation und den Signalaustausch zwischen Zellen ermöglichen. Einige Rezeptoren kommen nur auf ganz bestimmten Zellen vor und auf anderen nicht. Dadurch ist es z.B. möglich, daß Stoffe des Körpers, wie Hormone (dies sind in diesem Falle Liganden), nur an bestimmte Zellen binden und von diesen aufgenommen werden, während sie von anderen Zellen nicht aufgenommen werden und daher dort auch keine Wirkung auslösen können. Dieses Schlüssel-Schloß-Prinzip läßt sich für einen zielgerichteten Gentransfer verwenden. Die zu übertragenden Gene werden an den "Schlüssel" (Ligand) angeheftet und in den Körper des Patienten gegeben. Dort findet der Ligand seinen zugehörigen Rezeptor (das Schloß), den es nur auf den entsprechenden Zielzellen gibt. Die Zelle nimmt dann den Liganden mit dem entsprechenden Gen auf. Innerhalb der Zelle findet daraufhin ein Abbauprozess statt, in dessen Verlauf die DNA freigesetzt wird. Allerdings gelangt nur ein Teil der transportierten DNA in den Zellkern und zur Expression, ein wenigstens ebenso großer Teil wird zerstört.

Bisher sind vor allem zwei Liganden für dieses Vektorsystem verwendet worden: das Transferrin und das Asialoglykoprotein (ASGP). Während Transferrin-Rezeptoren auf vielen Zelltypen vorhanden sind, weil sie den Eisentransport in die Zelle vermitteln, finden sich ASGP-Rezeptoren dem heutigen Kenntnisstand nach nur auf Leberzellen. In Tierversuchen ist gezeigt worden, daß der Gentransfer in die Leberzellen relativ spezifisch verläuft: Zu etwa 80 Prozent findet sich die übertragene DNA in diesen und nicht in anderen Zellen. Das ist ein wesentlicher **Vorteil**. Es könnten so nicht nur Erkrankungen therapiert werden, die sich in der Leber manifestieren, sondern über den Blutweg auch solche in anderen Organen, da ein Fünftel des Herzminutenvolumens kontinuierlich die Leber passiert. Die Zellspezifität ließe an eine mögliche Anwendung in vivo denken. Bisher sind keine immunologischen Reaktionen beobachtet worden. Zu den **Nachteilen** gehört, daß die Expression der Gene nicht sehr stark und nur vorübergehend stattfindet. Das liegt vermutlich am Abbau der DNA, noch bevor sie in den Zellkern gelangt. Diesem Phänomen läßt sich entgegenwirken, indem die DNA mit Proteinen aus Adenoviren komplexiert wird, was allerdings andere Nachteile mit sich bringt. Vermutlich aufgrund der hohen Vektor-Konzentrationen, die für den Gentransfer notwendig sind, nehmen auch andere Zellen den DNA-Liganden-Komplex auf, womit der Vorteil dieses Systems, die Zellspezifität, teilweise aufgehoben wird.

Wird Transferrin als Ligand verwendet, binden die Komplexe an viele verschiedene Zelltypen. Für eine Behandlung in vivo scheint das System damit nicht geeignet zu sein. Wie auch bei den DNA-ASGP-Komplexen werden die therapeutisch wirksamen Proteine unter den jetzigen methodischen Bedingungen nicht sehr stark und nur vorübergehend exprimiert.

### 2.3.2 Liposomenvermittelter Gentransfer

Liposomen sind künstlich hergestellte Fettkügelchen (Vesikel), die spontan DNA in sich einschließen. Die Partikel können mit Zellmembranen verschmelzen und entlassen dann ihre Fracht ins Zellinnere (Zytoplasma). Liposomen finden in Kosmetika und in der experimentellen Medizin breite Anwendung, weil mit ihrer Hilfe Medikamente in Zellen eingeschleust werden können. Dokumentiert ist ein gentherapeutischer Versuch beim Menschen, bei dem mit Hilfe von DNA-Liposomen-Komplexen ein Gewebeverträglichkeits-Gen in Hautkrebszellen eingeschleust wurde. So soll das Immunsystem befähigt werden, diese Zellen als fremd zu erkennen und zu attackieren. Auch sind Studien zur gentherapeutischen Behandlung der *Zystischen Fibrose* nach diesem Prinzip in Großbritannien genehmigt worden.

Prinzipiell könnte das System in vitro und in vivo eingesetzt werden.

Zu den Vorteilen gehört, daß die verwendeten Moleküle meist identisch sind mit denen der behandelten Zellen und daher keine Immunreaktionen erwarten lassen.



Außerdem bietet der liposomenvermittelte Gentransfer Möglichkeiten, die Übertragung zellspezifisch zu machen. In die Vesikel lassen sich zum Beispiel Proteine integrieren mit hochselektiven Bindungseigenschaften für Zelloberflächen, wie sie Antikörper haben. Oder es könnten Eiweißmoleküle eingebaut werden, die mit bestimmten Zellen des Immunsystems in Wechselwirkung treten und die Zerstörung von Tumoren einleiten. Im Gegensatz zu den Liposomen selbst könnten solche Proteine jedoch das Immunsystem aktivieren, wodurch die Proteine abgebaut würden und eine längere Behandlung mit diesen Proteinen nicht möglich wäre. Lipid-DNA-Komplexe lassen sich leicht herstellen und haben eine hohe Transfektionseffizienz. Sie sind außerdem ungiftig für die Zelle. In Zellkulturen ist gezeigt worden, daß die Expression der Gene dauerhaft oder vorübergehend erfolgen kann.

Nachteile sind die zum Teil geringen Transfektionsraten bei bestimmten Liposomenpräparationen, die vermutlich wie bei den DNA-Liganden-Komplexen auf einen Abbau der DNA zurückzuführen sind. Wie auch bei anderen Methoden, bei denen die DNA fest in das Genom der behandelten Zelle eingebaut wird, besteht das Risiko der Insertionsmutagenese. Auch soll untersucht werden, ob Zellen der Keimbahn verändert werden könnten, da Liposomen auch unspezifisch mit Membranen verschiedener Zelltypen verschmelzen können.

### **2.3.3 Physikalische Methoden des Gentransfers**

Diese Verfahren haben, wie auch die beiden zuvor beschriebenen, den Vorteil, daß auf die Bestandteile von Viren verzichtet werden kann. Auch die Regulation der Genexpression kann unter die Kontrolle von Steuersequenzen gestellt werden, die vom Menschen stammen. Dies birgt weniger Sicherheitsrisiken in sich als die Verwendung viraler Vektoren.

#### **Direkte Injektion von DNA**

Die Methode macht es möglich, die zu übertragende DNA direkt in Gewebe des Patienten zu injizieren (in vivo). Das Verfahren ist bisher bei Tieren erprobt worden. Dabei wurde Mäusen die DNA direkt in Muskelgewebe gespritzt. Bis zu 30 Prozent der Zellen an der Injektionsstelle exprimierten daraufhin das entsprechende Protein. In einzelnen Mauszellen wurde das Eiweiß lebenslang (d.h. ca. 18 Monate) synthetisiert (Schendel, Modrow 1993, S. 40).

Über die Bewertung des Systems gehen die Meinungen auseinander. Nach Mertelsmann kann die Methode sehr ineffizient sein und ist am ehesten anwendbar bei bestimmten Zellen des Herz- und Skelettmuskels. Schendel zeigt eine Reihe von Möglichkeiten auf, die Methode für eine Gentherapie auch in vivo anzuwenden. Sie bezieht sich dabei auf entsprechende Untersuchungen an Tieren, die unter anderem ergeben haben, daß Skelettmuskel- und Herzmuskelzellen nach direkter Injektion von

DNA die entsprechenden Proteine synthetisieren können. Die Methode sei einfach, schnell und gut zu handhaben. Für eine Therapie des menschlichen Herzmuskels müßten jedoch Techniken entwickelt werden, die den chirurgischen Eingriff und bestimmte, bei Tieren beobachtete Komplikationen vermeiden. Schendel weist auch auf die Möglichkeiten hin, mit Hilfe der direkten Injektion von DNA neue Immunisierungsstrategien zu entwickeln. Hierbei könnten Gene in die Zellen eingeschleust werden, die eine Expression von speziellen, für bestimmte Krankheitserreger charakteristischen Protein-Antigenen bewirken. In Tierversuchen ist gezeigt worden, daß sich auf diese Weise ein spezifischer Immunschutz ausbilden kann (Schendel, Modrow 1993, S. 40 ff).

Nach Tappeser sind die Effekte der direkten Injektion von DNA beim Menschen nicht kontrollierbar, so daß nur nachträgliche Untersuchungen Aufschluß über den Verbleib der injizierten Fremd-DNA geben können (Tappeser, Panholzer 1993, S.21).

### **Mikroinjektion**

Unter einem hochauflösenden Mikroskop wird die zu übertragende DNA in vitro direkt mit Hilfe einer Glaskapillare in einzelne Zielzellen injiziert. Die Mikroinjektion käme daher für eine Gentherapie beim Menschen nur als ex vivo Verfahren in Frage. Die zu punktierenden Zellen müssen sich in Kultur gut vermehren lassen, was die Wahl der Zielzellen erheblich beschränkt. Zu denken wäre an die Behandlung von Stammzellen. Eine stabile Integration der DNA ist mit einer Zahl von 0,1 bis 1 Prozent der behandelten Zellen ein seltenes Ereignis und damit der limitierende Faktor der Methode.

### **Kalzium-Phosphat-Kopräzipitation**

Unter in vitro Bedingungen wird DNA mit Kalzium-Phosphat ausgefällt (präzipitiert). Dadurch wird die negative elektrische Ladung der DNA neutralisiert, und es kommt gleichzeitig zu einer Schädigung von Zellmembranen. Dies ermöglicht es, daß die Nukleinsäure die Membran passiert und in die Zelle eindringt. Die DNA wird dann in das Genom der Wirtszelle integriert. Die Kalzium-Phosphat-Kopräzipitation ist die im Laboralltag am häufigsten angewendete Methode, sie hat jedoch für klinische Anwendungen derzeit keine Bedeutung.

### **Gentransfer durch Partikel-Beschuß**

Die zu übertragende DNA wird auf Metallstäbe aufgebracht, die aus Wolfram oder Gold bestehen. Sie wird dann mit dem Metall auf hohe Geschwindigkeiten gebracht und als hochbeschleunigter Partikelstrom in die Zellen transferiert. Dieses "Gene-gun"-System ist sowohl ex als auch in vivo angewendet worden. Es lassen sich verschiedene Zelltypen damit behandeln, allerdings werden sehr unterschiedlich hohe

Genexpressionsraten beschrieben. Das Verfahren ist relativ einfach, um Gene in vivo in Hautzellen zu übertragen, für andere Organe wäre ein chirurgischer Eingriff nötig. Es könnte aber bei einigen Gewebetypen laut Schendel die Methode der Wahl darstellen, da es relativ schonend ist. Untersuchungen über die langfristigen Auswirkungen der Goldpartikel, die in den Zellen zurückbleiben, liegen bisher nicht vor.

### **Gentransfer durch Elektroporation**

Bei diesem Verfahren werden die Zellmembranen vorübergehend durchlässig für DNA gemacht, indem ein starker elektrischer Feldimpuls angelegt wird. Dieser bewirkt, daß sich Poren bilden, die sich nach einer Regenerationsphase wieder schließen. Die Elektroporation ist im Laboralltag als Gentransfermethode verbreitet. Für eine Gentherapie beim Menschen ist der kritische Faktor, daß je nach Höhe der angewendeten Feldstärke 40 bis 80 Prozent der behandelten Zellen absterben, also genug Zellmaterial zur Verfügung stehen muß. Bei etwa 0,1 bis 1 Prozent der Zellen integriert sich die DNA stabil in die Erbsubstanz der Zellen. Die Elektroporation ist unter den nicht-viralen Gentransfermethoden eine der effektivsten und schon relativ weit entwickelt. Sie eignet sich vor allem für ex vivo Systeme der Gentherapie.

Die nicht-viralen und physikalischen Methoden des Gentransfers haben gegenüber den viralen Methoden eine Reihe von Vorteilen. So können mit ihnen größere Genabschnitte übertragen werden als mit viralen Systemen. Dadurch ist es möglich, auch längere Gene vollständig, d.h. zusammen mit ihren natürlichen Regulationseinheiten, zu transferieren. Einige von ihnen sind unter Umständen spezifischer als die viralen Vektoren, weil sich in die Konstrukte Oberflächenstrukturen einbauen lassen, die sich lediglich an einen bestimmten, ausgesuchten Zelltyp binden. Unter sicherheitstechnischen Überlegungen haben nicht-virale und physikalische Gentransfersysteme den Vorteil, daß die so transferierten Gene keine viralen DNA-Stücke enthalten müssen. Dadurch kann bei Verwendung solcher Systeme der Gefahr einer Rekombination von Viren aus dem Weg gegangen werden.

Die Nachteile der nicht-viralen und physikalischen Gentransfersysteme liegen darin, daß sie meist viel weniger therapeutische Gene in Zellen bringen als virale Systeme (niedrige Transfektionsraten). Außerdem sind solche Systeme noch nicht sehr weit entwickelt und bisher nur in wenigen Versuchen klinisch angewendet worden.

### 3. Zusammenfassende Beurteilung der Methoden der Genterapie und Gentransfersysteme

Die Vielfalt der Vektoren und Wege, Gene in menschliche Zellen einzuschleusen, verdeutlicht die große Variationsbreite möglicher Methoden und Behandlungsweisen von Krankheiten, die unter dem Begriff Genterapie subsumiert werden. Nicht alle Methoden dieses inzwischen weiten Forschungsfeldes werden tatsächlich in routinemäßige Anwendungen Eingang finden.

Entscheidend wird dafür sein, welche Methoden bei ersten klinischen Versuchen erprobt werden und mit welchen die ersten Erfolge verbuchbar sind. Ist erst einmal nachgewiesen, daß ein bestimmtes System des Gentransfers funktioniert, wird der Mediziner gemäß seinem Heilauftrag und angesichts des Leides schwerstkranker Menschen anstreben, dieses System zu nutzen, um möglichst viele der bereits bekannten Gene gegen Krankheiten einzusetzen.

Die große Breite der Suche nach den besten Methoden des Gentransfers zeigt aber auch, daß ein befriedigendes System, das eine große Effizienz des Gentransfers, eine sichere Positionierung und Regulation der eingebrachten Gene und gleichzeitig die größtmögliche Sicherheit für Patient und Umwelt bedeutet, noch nicht gefunden ist. Alle bisherigen Systeme zeigen in mindestens einem dieser Anforderungsbereiche entscheidende Mängel.

Zusammengefaßt sind die **nicht-viralen Methoden** des Gentransfers (z.B. die Elektroporation oder der liposomenvermittelte Gentransfer) und die Vermeidung von viraler DNA bei der Vektorkonstruktion risikoärmere Methoden als die Verwendung viraler Vektoren, da dadurch die Gefahr der Rekonstruktion humanpathogener Viren aus viralen Teilen von Vektoren systematisch umgangen wird. Weiterhin sind Genterapie-Versuche ex vivo sicherer handhabbar als Versuche in vivo, da bei der ex vivo Methode genau bestimmt werden kann, in welche Zellen das neue Gen eingebracht wird und eine Überprüfung der Produktionsmenge des therapeutischen Stoffes und der eventuell veränderten Eigenschaften der Zellen vorgenommen werden kann. Außerdem würde die Konstruktion und Verwendung von Vektoren, die nicht in die Erbsubstanz der Patientenzellen integriert werden, das Risiko von Nebenwirkungen vermindern. Dadurch könnten mögliche Störungen (Insertionsmutagenesen) der zelleigenen Gene vermieden werden.

Einzelne Komponenten solcher risikoarmen Systeme werden auch in ersten Heilversuchen am Menschen angewendet. Ihre therapeutischen Möglichkeiten lassen sich jedoch noch nicht beurteilen.



Die meisten klinischen Forscher setzen zur Zeit auf die Verwendung **retroviraler Vektoren**. Diese Vektoren sind bisher am besten erforscht, und es ist bekannt, daß sie eine hohe Effizienz bei der Übertragung von Genen in Zielzellen aufweisen. Diese Vektoren integrieren in die DNA der Zielzellen und gewährleisten dadurch einen stabilen Einbau der neuen Gene. Dadurch erhofft man sich eine sichere und lange Produktionsdauer der therapeutisch wirksamen Gene. Es ist bekannt, daß retrovirale Vektoren beim Einsatz in vivo auch Zellen befallen können, für die sie nicht bestimmt sind (z.B. Keimbahnzellen), und daß mit diesen Vektoren weder Insertionsmutagenesen noch auf Dauer die Rekonstruktion von Viren vermieden werden kann. Letzteres wird jedoch von einigen Wissenschaftlern für unwahrscheinlich gehalten, wenn Sicherheitsvektoren verwendet werden, bei denen mehrere Rekonstruktions-schritte nötig sind, um ein vollständiges Virus zurückzubilden (Kapitel III. 2.2.1). Durch Tierexperimente und erste Erfahrungen mit den zur Zeit stattfindenden Versuchen an bisher unheilbar kranken Menschen wird das Risiko für Patienten und Umwelt abgeschätzt, das die Verwendung dieser Vektoren tatsächlich mit sich bringt.

Sicherheitstechnisch gesehen liegen zwischen den nicht-viralen und retroviralen Methoden des Gentransfers die anderen **viralen Vektoren**. Da hier ganz verschiedene Viren zum Einsatz kommen können, hängt die Risikobeurteilung dieser Vektoren stark vom Einzelfall der Anwendung und des verwendeten Virus ab. Bestimmte virale Vektoren können das Repertoire der Anwendungsmöglichkeiten von nicht-viralen und retroviralen Vektoren ergänzen. Genannt wurde z.B. die Verwendung von adenoviralen Vektoren zur in vivo Genthherapie der Lunge bei der Behandlung der *Zystischen Fibrose* und der Einsatz von Vektoren auf der Basis von Herpes-Viren bei der Behandlung von Hirntumoren. Virale Vektoren sind jedoch bisher weniger weit entwickelt als retrovirale Vektoren. Außerdem können Revertanten u.U. leicht auf andere Menschen übertragen werden und sich somit in der Umwelt ausbreiten.

Trotz vieler Methoden des Gentransfers und über hundert klinischer Versuche ist die Heilung einer Erkrankung mittels genterapeutischer Behandlungen noch nicht gelungen. Es wurde in wenigen Fällen über positive Wirkungen, wie dem Stillstand des Wachstums von Metastasen bei einigen Krebspatienten und die Reduzierung von bösartigen Hirntumoren auf weniger als die Hälfte ihrer Größe (bei vier Patienten), berichtet (Der Spiegel 1994, S. 217). Die Senkung des Cholesterinspiegels um 20 % bei dem in den USA behandelten Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie dauert zwar schon seit Jahren an, ist aber viel zu gering, um den Patienten von seiner Erkrankung zu heilen. Auch die genterapeutischen Behandlungen der in den USA gegen ADA-Mangel therapierten Kinder müssen im Abstand weniger Monate wiederholt werden.

Ob die Genthherapie die häufig in sie gesetzten Erwartungen erfüllen wird, läßt sich damit zur Zeit noch nicht beurteilen. Versprechungen, multifaktoriell ausgelöste

Krankheiten zu heilen oder sogar präventiv Gentherapien gegen genetische Risikofaktoren für Krankheiten und rezessiv vererbte Genmutationen durchführen zu können, sind sicherlich aus Gründen der medizinischen Sicherheit, der ökonomischen Effektivität und wegen möglicher Gefahren für die gesellschaftliche Entwicklung mit großer Skepsis zu betrachten. Auch die Tendenz, gentherapeutische Behandlungen immer häufiger als "kausale" Therapien zu bezeichnen, ist kritisch zu beurteilen, da -wenn überhaupt - nur 2 % aller Krankheiten des Menschen (nämlich nur die monogen vererbten) mit Hilfe der Gentherapie in ihrer Ursache behandelbar sind. Eine Ausweitung dieses Begriffes auf Gentherapieansätze, die eher Symptome von Krankheiten bekämpfen sollen, erweckt Erwartungen, die sicherlich nicht erfüllt werden können. Die Wahrscheinlichkeit, daß gentherapeutische Ansätze bei der Behandlung einiger Erbkrankheiten, die nachweislich nur durch die Veränderung eines Genes verursacht sind, schon in nächster Zukunft Erfolge zeigen werden, ist relativ groß. Erste erfolgversprechende positive Wirkungen gentherapeutischer Behandlungen bei der Krebsbekämpfung sind angesichts hundertausender von Krebstoten pro Jahr sehr zu begrüßen, wenn die Sicherheit der verwendeten Methoden für die Patienten und die sie umgebenden Menschen gewährleistet ist.

Vor dem Hintergrund der zur Zeit noch ungeklärten Fragen in bezug auf die generelle Funktionsfähigkeit der Gentherapie und auf die Sicherheit der zum Gentransfer eingesetzten Methoden lassen sich in Deutschland zur Zeit vier Positionen zur Gestaltung weiterer Forschungsanstrengungen auf dem Gebiet gentherapeutischer Methoden feststellen.

**Position 1:** Die Sicherheit und Effektivität des Gentransfers mit Hilfe retroviraler Vektoren konnte durch intensive Forschung und Konstruktionsarbeit auf einen hohen Stand gebracht werden und wurde in Tierversuchen bewiesen. Das Eintreten unerwarteter Nebenwirkungen durch die Verwendung retroviraler Vektoren, wie z.B. die Rekonstruktion von humanpathogenen Viren, ist sehr unwahrscheinlich. Erste klinische Therapieversuche am Menschen in vivo und ex vivo mit Hilfe dieser Vektoren sind daher vertretbar und erscheinen angesichts des Leides schwerstkranker Menschen sogar geboten, um möglichst schnell diesen Menschen helfen zu können.

**Position 2:** Für erste klinische Heilversuche ist die Verwendung viraler und retroviraler Vektoren nicht notwendig. Sie sollten daher erst dann zum Einsatz kommen, wenn gentherapeutische Erfolge anders nicht erzielt werden können. Vielmehr sind aus Sicherheitsgründen zunächst physikalische Methoden des Gentransfers (z.B. Elektroporation und liposomenvermittelter Gentransfer) zu bevorzugen. Der erste genehmigte Gentherapieversuch in Deutschland ist ein Beispiel für eine solche Vorgehensweise. Hier wird mit nicht-viralen Methoden des Gentransfers (Elektroporation und liposomenvermittelter Gentransfer) und ex vivo gearbeitet.

**Position 3:** Versuche am Menschen sind zur Zeit höchstens ex vivo vertretbar, da Fragen der Zellspezifität von Vektoren, der Steuerbarkeit des Integrationsortes der neuen Gene in der Erbsubstanz der Zielzellen und der Regulation der eingebrachten Gene nicht gelöst sind. Diese Fragen müßten aber zumindest vor einer Anwendung von viralen, retroviralen und nicht-viralen Vektoren am Menschen in vivo geklärt werden, um die Risiken für den Patienten beurteilen zu können.

**Position 4:** Die Verwendung viraler und retroviraler Vektoren wird strikt abgelehnt, da beim Gebrauch dieser Vektoren eine Rekonstruktion von Viren, die Krankheiten beim Menschen hervorrufen könnten, nicht ausgeschlossen werden kann. Es wird bezweifelt, daß es technisch möglich ist, virale Vektoren so zu konstruieren, daß eine Rekombination der alten oder anders zusammengesetzter Viren auf Dauer vermieden werden kann, da Viren natürlicherweise ein extrem hohes Rekombinationspotential besitzen.

Außerdem ist auch wegen gesellschaftlicher Gefahren, die Verwendung gentherapeutischer Verfahren streng zu kontrollieren und auf solche Krankheiten zu beschränken, für die es keine alternativen Behandlungsmethoden gibt.

## **IV. Fortführung des Monitoring-Vorhabens "Gentherapie": Darstellung der politisch-rechtlichen Diskussion**

Die Kontroverse um die Sicherheitsbeurteilung gentherapeutischer Verfahren und Methoden des Gentransfers in menschliche Zellen setzt sich auf der politisch-rechtlichen Ebene fort. Einerseits werden die rechtlichen Regelungen, z.B. nach dem Embryonenschutzgesetz, dem Gentechnikgesetz, dem Arzneimittelgesetz und den standesrechtlichen Regeln für Ärzte als vollkommen ausreichend bezeichnet, sowohl hinsichtlich der Regelung der zur Zeit geplanten und teilweise schon in der Durchführung befindlichen gentherapeutischen Heilversuche und klinischen Prüfungen als auch hinsichtlich späterer Zulassungen von gentherapeutischen Medikamenten und Therapieverfahren. Hinweise, daß in der EU Regelungen zur Harmonisierung des Umgangs mit der Gentherapie in Vorbereitung sind, beziehen sich vor allem auf Empfehlungen (Guidelines) der EU zur Vermarktung gentherapeutischer Produkte in der EU. Es sollen beispielsweise nur Produkte vermarktet werden, die bestimmte Anforderungen, wie z.B. erfolgreich absolvierte Sicherheitstests, erfüllen. Diese Regeln verstehen sich aber als Richtlinien innerhalb der bestehenden Gesetze, wie z.B. innerhalb der rechtlichen Regelungen für die Zulassung von Arzneimitteln, und streben nicht die Schaffung neuer gesetzlicher Regeln an.

Auf der anderen Seite wird die Ansicht vertreten, daß die bestehenden Gesetze und standesrechtlichen Regeln nicht ausreichend sind, um spezifische Anforderungen und Gefahren gentherapeutischer Behandlungen hinreichend abzudecken. Kritisiert wird insbesondere, daß die Sicherheitsregelungen des Gentechnikgesetzes nicht auch für Versuche am Menschen gelten und sich damit mögliche Auswirkungen gentherapeutischer Behandlungen auf andere Menschen und die Umwelt dieser Regelung entziehen. Zudem wird auf die fehlende rechtliche Absicherung der lokalen Ethikkommissionen hingewiesen, die darüber wachen, daß bei risikoreichen Versuchen am Menschen der Forscherdrang des Arztes nicht die Grenzen des ethisch Zulässigen überschreitet. Die Zusammensetzung dieser Kommissionen, ihre Kompetenzen, die zu verwendenden Bewertungsverfahren und die Notwendigkeit ihrer Konsultation sind rechtlich nicht abgesichert. Sie können daher lokal unterschiedlich gehandhabt werden, obwohl es diesbezüglich Absprachen des Arbeitskreises medizinischer Ethikkommissionen in der Bundesrepublik Deutschland und Richtlinien der Bundesärztekammer gibt.

Es wird auch angemerkt, daß bei dem zur Zeit zu beobachtenden rasanten Wachstum des Wissens über Chancen und Risiken gentherapeutischer Verfahren und der Fülle



von zu erwartenden Anträgen sowie der großen Unterschiede der verwendeten Methoden, lokale Ethikkommissionen eventuell nicht immer den neuesten Stand des Wissens als Basis für ihre Entscheidungen zugrunde legen könnten. Es wird außerdem darauf hingewiesen, daß eine nationale Koordinierung gentherapeutischer Versuche sinnvoll sein könnte, um Doppelarbeiten zu vermeiden. Von einigen wird daher eine zentrale Einrichtung für Fragen und Probleme der Gentherapie (eventuell in Anlehnung an die Organisationsweise des amerikanischen *Recombinant DNA Advisory Committee* [RAC]) gefordert, die neben der langfristigen Festlegung ethischer Grenzen auch die Einhaltung von Sicherheitskriterien, wie die Gewebespezifität von Vektoren und die Expressionskontrolle der neuen Gene (Enquête-Kommission 1987, S. 181; vgl. auch die Richtlinien der Bundesärztekammer im Anhang II), bundeseinheitlich beurteilen könnte.

Auf die Bewertung der Sicherheit gentherapeutischer Methoden aufbauend, plant das Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag im nächsten Bericht zum Monitoring-Thema "Gentherapie" die Argumente und Positionen zur Frage der Regulierung sowie eine Übersicht der rechtlichen Regelungen zur Gentherapie in anderen Ländern zusammenzustellen.

## Literatur

### Im Auftrag des TAB erstellte Gutachten:

MERTELSMANN, R., LINDEMAN, A., ROSENTHAL, F.M. (1994): *Vergleichende Analyse von Sicherheitsaspekten gentherapeutischer Methoden bei der somatischen Gentherapie*, Freiburg

SCHENDEL, D.J., MODROW, S. (1994): *Vergleichende Sicherheitsaspekte gentherapeutischer Methoden (Nutzen-Risiko-Abwägung)*, München, Regensburg

TAPPESE, B., PANHOLZER, B. (1993): *Methodische Verfahren der somatischen Gentherapie - Analyse unter Risikoaspekten*, Freiburg

### Weitere Literatur

ANDERSON, W.F. (1994): *Gene Therapy for Genetic Diseases*. In: HUMAN GENE THERAPY, vol. 5, S. 281 - 282

ARTEL, P., BODE, J., MIELKE, Ch., GRANNEMANN, R., HEINEMEYER, Th., KLEHR, D., WIRTH, M., HAUSER, H. (1994): *Biologische Sicherheit im Umgang mit rekombinanten Säugerzellen*. In: Biologische Sicherheit, Band 3. Forschung Biotechnologie, hrsg. vom Projektträger Biologie, Energie, Ökologie, Forschungszentrum Jülich, im Auftrag des Bundesministers für Forschung und Technologie, S. 463 - 502

ÄRZTE-ZEITUNG (1994): *Gentherapien werden in der Zukunft immer wichtiger*. 14. April

BAYERTZ, K., SCHMIDTKE, J. (1993): *Genomanalyse: Wer zieht den Gewinn?* In: Mannheimer Forum 93/94, Ein Panorama der Naturwissenschaften, hrsg. von E.P. Fischer, München, Zürich, S.71 - 125

COGHLAN, A. (1994): *Outrage greets patent on designer sperm*. In: NEW SCIENTIST, 9. April, S. 4 - 5

DER SPIEGEL (1994): *Heilsame Fracht*, Heft 16, S. 216 - 218

DEUTSCHER BUNDESRAT (1992): *Entschließung des Bundesrates zur Anwendung gentechnischer Methoden am Menschen*. BR.-Drs. 424/92

ENQUÊTE-KOMMISSION (1987): *Chancen und Risiken der Gentechnologie*. Der Bericht der Enquête-Kommission "Chancen und Risiken der Gentechnologie" des 10. Deutschen Bundestages, Referat Öffentlichkeitsarbeit, Zur Sache 1/87, Bonn

FAUSTINELLA, F., KWON, H., SERRANO, F., BELMONT, J.W., CASKEY, C.T., AGUILAR-CORDOVA, E. (1994): *A New Family of Murine Retroviral Vectors with Extended Multiple Cloning Sites for Gene Insertion*. In: HUMAN GENE THERAPY, vol. 5, S. 307 - 312

HENNEN, L., PETERMANN, Th., SCHMITT, J.J. (1993): TA-Projekt "Genomanalyse" - Chancen und Risiken genetischer Diagnostik. Endbericht des Büros für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag. TAB-Arbeitsbericht Nr. 18

- NAKOTT, J. (1994): *Der optimierte Mensch*. In: Bild der Wissenschaft, Heft 4, S. 56 - 61
- NATURE (1994): *Gene therapy gets double dose of screening*. Vol. 367, S. 399
- SANIDES, S., MIKETTA, G. (1993): *Gentechnik; Das letzte Tabu fällt*. In: FOCUS, Heft 52, S. 106 - 108
- SIMM, M. (1994): *Mit kleinen Schritten gegen den Krebs*. In: Süddeutsche Zeitung, 17.März, S. 33
- STROHMANN, R. (1994): *Epigenesis: The Missing Beat in Biotechnology?* In: BIO/TECHNOLOGY, vol. 12, S. 156 - 164
- SysTA BIOMED (1994): *Gentransfer in menschliche Körperzellen*. Stand der Technik, medizinische Risiken, soziale und ethische Probleme. Gutachten im Auftrag des Bundesministeriums für Forschung und Technologie, erstellt vom Institut für System und TechnologieAnalysen, Abteilung Technikfolgenabschätzung, i.E.

## Anhänge



# I. Veröffentlichte klinische Genmarkierungs- und Gentherapieprotokolle

(Stand 12/93)

Gentransfer basierend auf:   RV =   retroviraler Vektor  
                                       Ad =   Adenovirus  
                                       Lipo =   Liposomen

Nr.	Marker (M)/ Therapie (T)	Titel	Autor	Institut	Behandlungs- datum 1. Patient	Gentransfer- Technologie
1	M	The Treatment of Patients with Advanced Cancer Using Cyclophosphamide, Interleukin-2 and Tumor Infiltrating Lymphocytes	S.A. Rosenberg	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	22.05.89	RV
2	T	Treatment of Severe Combined Immune Deficiency (SCID) due to Adenosine Deaminase (ADA) Deficiency with Autologous Lymphocytes Transduced with a Human ADA Gene	R.M. Blaese	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	14.09.90	RV

3	T	Gene Therapy of Patients with Advanced Cancer Using Tumor Infiltrating Lymphocytes Transduced with the Gene Coding for tumor Necrosis Factor	S.A. Rosenberg	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	29.01.91	RV
4	M	Autologous Bone Marrow Transplant for Children with Acute Myelogenous Leukemia in First Complete Remission: Use of Marker Genes to Investigate the Biology of Marrow Reconstitution and the Mechanism of Relapse	M.K. Brenner	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	09.09.91	RV
5	M	A Phase I Trial of High Dose Carboplatin and Etoposide with Autologous Marrow Support for Treatment of Stage D Neuroblastoma in First Remission: Use of Marker Genes to Investigate the Biology of Marrow Reconstitution and the Mechanism of Relapse	M.K. Brenner	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	22.01.92	RV

6	M	A Phase I Trial of High-dose Carboplatin and Etoposide with Autologous Marrow Support for Treatment of Relapse / Refractory Neuroblastoma Without Apparent Bone Marrow Involvement: Use of Marker Genes to Investigate the Biology of Marrow Reconstitution and the Mechanism of Relapse	M.K. Brenner	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	16.07.92	RV
7	M	Autologous Bone Marrow Transplantation for Chronic Myelogenous Leukemia in Which Retroviral Markers Are Used to Discriminate Between Relapse Which Arises from Systemic Disease Remaining after Preparative Therapy Versus Relapse Due to Residual Leukemic Cells in Autologous Marrow: A Pilot Trial	A.B. Deisseroth	M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA	31.07.92	RV
8	M	Hepatocellular Transplantation in Acute Hepatic Failure and Targeting Genetic Markers to Hepatic Cells	F.D. Ledley	Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA	nn	RV

9	M	The Treatment of Patients with Melanoma Using Interleukin-2, Interleukin-4, and Tumor Infiltrating Lymphocytes	M.T. Lotze	University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA	03.03.92	RV
10	T	Immunization of Cancer Patients Using Autologous Cancer Cells Modified by Insertion of the Gene for Tumor Necrosis Factor (TNF)	S.A. Rosenberg	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	08.10.91	RV
11	T	Immunization of Cancer Patients Using Autologous Cancer Cells Modified by Insertion of the Gene for Interleukin-2 (IL-2)	S.A. Rosenberg	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	12.03.92	RV
12	T	<i>Ex Vivo</i> Gene Therapy of Familial Hypercholesterolemia	J.M. Wilson	University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA	05.06.92	RV
13	T	Immunotherapy of Malignancy by <i>In Vivo</i> Gene Transfer into Tumors	G.J. Nabel	University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA	04.06.92	Lipo
14	M	Retroviral-Mediated Gene Transfer of Bone Marrow Cells during Autologous Bone Marrow Transplantation for Acute Leukemia	K. Cornetta	Indiana University, Indianapolis, IN, USA	15.05.92	RV



15	M	The Treatment of Patients with Metastatic Melanoma and Renal Cell Cancer Using <i>In Vitro</i> Expanded and Genetically-Engineered (Neomycin Phosphotransferase) Bulk, CD8 (+) and/or CD4 (+) Peripheral Blood Leukocytes in Combination with Recombinant Interleukin-2 Alone, or with Recombinant Interleukin-2 and Recombinant Alpha Interferon	J.S. Economou	University of California at Los Angeles, Los Angeles, CA, USA	19.02.93	RV
16	T	Gene Transfer for the Treatment of Cancer	S.M. Freeman	University of Rochester School of Medicine, Rochester, NY, USA	nn	RV
17	T	Phase I Study of Cellular Adoptive Immunotherapy Using Genetically Modified CD8+ HIV-Specific T Cells for HIV-Seropositive Patients Undergoing Allogeneic Bone Marrow Transplant	S.R. Ridell	University of Washington, Seattle, WA, USA	26.02.93	RV
18	T	Phase I Study of Cytokine-Gene Modified Autologous Neuroblastoma	M. Brenner	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	09.12.92	RV

19	T	Gene Therapy for the Treatment of Brain Tumors Using Intra-Tumoral Transduction with the Thymidine Kinase Gene and Intravenous Ganciclovir	E. Oldfield	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	07.12.92	RV 'Producer'- Zellinie
20	M	Use of Two Retroviral Markers to Test Relative Contribution of Marrow and Peripheral Blood Autologous Cells to Recovery After Preparative Therapy	A.B. Deisseroth	MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA	nn	RV
21	T	A Pilot Study of Immunization with HLA-A2 Matched Allogeneic Melanoma Cells that Secrete Interleukin-2 in Patients with Metastatic Melanoma	B. Gansbacher	Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA	17.02.93	RV
22	T	A Pilot Study of Immunization with Interleukin-2 Secreting Allogeneic HLA-A2 Matched Renal Cell Carcinoma Cells in Patients with Advanced Renal Cell Carcinoma	B. Gansbacher	Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA	17.03.93	RV

23	M	Retroviral-Mediated Gene Transfer of Bone Marrow and Peripheral Blood Stem Cells During Autologous Bone Marrow Transplantation for Multiple Myeloma	C. Dunbar	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	18.03.93	RV
24	M	Pilot Study of High Dose ICE (Ifosfamide, Carboplatin, Etoposide) Chemotherapy and Autologous Bone Marrow and Peripheral Blood Stem Cells in Patients with Metastatic Breast Cancer	J.A. O'Shaughnessy	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	07.12.92	RV
25	M	Retroviral-Mediated Gene Transfer of Bone Marrow and Peripheral Blood Stem Cells During Autologous Bone Marrow Transplantation for Chronic Myelogenous Leukemia	C. Dunbar	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	nn	RV
26	M	A Study of the Safety and Survival of the Adoptive Transfer of Genetically Marked Syngeneic Lymphocytes in HIV Infected Identical Twins	R.E. Walker	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	nn	RV

27	M	Phase I/II Study of the Use of Recombinant Human Interleukin 3 (rhIL3) Stimulated Peripheral Blood Progenitor Cell Supplementation in Patients with Breast Carcinoma or Hodgkin's Disease	F.G. Schuening	Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, USA	nn	RV
28	M	Evaluation of the Use of Recombinant Human G-CSF Stimulated Peripheral Blood Progenitor Cell Supplementation in Autologous Bone Marrow Transplantation in Patients with Lymphoid Malignancies	F.G. Schuening	Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, USA	nn	RV
29	M	A Trial of G-CSF Stimulated Peripheral Blood Stem Cells for Engraftment in Identical Twins	F.G. Schuening	Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, USA	nn	RV



30	M	Use of Retroviral Markers to Identify Efficacy of Purging and Origin of Relapse Following Autologous Bone Marrow and Peripheral Blood Cell Transplantation in Indolent B Cell Neoplasms (Follicular Non-Hodgkin's Lymphoma or Chronic Lymphocytic Leukemia [CLL] Patients)	A.B. Deisseroth	MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA	nn	RV
31	T	Clinical Protocol for Modifications of Oncogene and Tumor Suppressor Gene Expression in Non-Small Cell Lung Cancer	J.A. Roth	MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA	nn	RV
32	T	Use of Marker Genes to Investigate the Mechanism of Relapse and the Effect of Bone Marrow Purging in Autologous Transplantation for Stage D Neuroblastoma	M. Brenner	Baxter Helathcare Corporation and St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	nn	RV
33	T	Gene Therapy of Cancer: A Pilot Study of IL-4 Gene Modified Antitumor Vaccines	M.T. Lotze	University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA	nn	RV

34	Gene Therapy of the Respiratory Manifestations of Cystic Fibrosis Using a Replication Deficient, Recombinant Adenovirus to Transfer the Normal Human Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator cDNA to the Airway Epithelium	R.G. Crystal	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	17.04.93	Ad
35	Gene Therapy of Cystic Fibrosis Lung Diseases Using E1 Deleted Adenoviruses: A Phase I Trial	J.M. Wilson	University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA	nn	Ad
36	Cystic Fibrosis Gene Therapy Using an Adenovirus Vector: In Vivo Safety and Efficacy in Nasal Epithelium	M.J. Welsh	Howard Hughes Medical Institute, Houston, TX, USA	nn	Ad
37	Gene Therapy for the Treatment of Malignant Brain Tumors with In Vivo Tumor Transduction with the Herpes Simplex Thymidine Kinase Gene/Ganciclovir System	K. Culver	Iowa Methodist Medical Center, Des Moines, IA, USA	nn	RV

38	Administration of Neomycin Resistance Gene Marked EBV Specific Cytotoxic T Lymphocytes to Recipients of Mismatched-Related or Phenotypically Similar Unrelated Donor Marrow Grafts	H.E. Heslop	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	nn	
39	Assessment of the Efficacy of Purging by Using Gene-Marked Autologous Marrow Transplantation for Children with Acute Myelogenous Leukemia in First Complete Remission	M. Brenner	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA	nn	RV
40	Phase I Study of Non-Replicating Autologous Tumor Cell Injections Using Cells Prepared With or Without Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor Gene Transduction in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma	J. Simons	Johns Hopkins Oncology Center, Baltimore, MD, USA	nn	RV

41		A Phase I Study of Gene Therapy of Cystic Fibrosis Utilizing a Replication Deficient Recombinant Adenovirus Vector to Deliver the Human Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator cDNA to the Airways	R.W. Wilmott	Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH, USA	nn	Ad
42		Gene Therapy for Cystic Fibrosis Using E1 Deleted Adenovirus: A Phase I Trial in the Nasal Cavity	R.C. Boucher	University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA	nn	Ad
43	T	A Phase I Trial of Human Gamma Interferon-Transduced Autologous Tumor Cells in Patients with Disseminated Malignant Melanoma	H.F. Seigler	Duke University, Durham, NC, USA	nn	
44	T	Use of Safety-Modified Retroviruses to Introduce Chemotherapy Resistance Sequences into Normal Hematopoietic Stem Cells for Chemoprotection During the Therapy of Ovarian Cancer: A Pilot Trial	A.B. Deisseroth	MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA	nn	RV
45	T	Immunotherapy for Cancer by Direct Gene Transfer into Tumors	G.J. Nabel	University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA	nn	Lipo

46	T	Gene Therapy for Gaucher Disease: Ex Vivo Gene Transfer and Autologous Transplantation of CD34(+) Cells	J.A. Barranger	University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA	nn	
47	T	Retroviral Mediated Transfer of the cDNA for Human Glucocerebrosidase into Hematopoietic Stem Cells of Patients with Gaucher Disease	S. Karlsson	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	nn	RV
48	T	A Preliminary Study to Evaluate the Safety and Biologic Effects of Murine Retroviral Vector Encoding HIV-1 Genes [HIV-IT(V)] in Asymptomatic Subjects Infected with HIV-1	J.E. Galpin	University of Southern California, Los Angeles, CA, USA	nn	RV
49	T	A Molecular Genetic Intervention for AIDS - Effects of a Transdominant Negative Form of Rev	G.J. Nabel	University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA	nn	
50	T	Gene Therapy for the Treatment of Recurrent Pediatric Malignant Astrocytomas with In Vivo Tumor Transduction with the Herpes Simplex Thymidine Kinase Gene	C. Raffel	Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles, CA, USA	nn	RV 'Producer'- Zellinie
51	T	Human MDR Gene Transfer in Patients with Advanced Cancer	C. Hesdorffer	Columbia University, New York, NY, USA	nn	



52	T	Gene Therapy for Human Brain Tumors Using Episome-Based Antisense cDNA Transcription of Insulin-Like Growth Factor I	J. Ilan	Case Western Reserve, Cleveland, OH, USA	nn	
53		Phase I Study of Transfected Cancer Cells Expressing the Interleukin-2 Gene Product in Limited Stage Small Cell Lung Cancer	P. Cassileth	University of Miami & University Veterans Administration Hospital, Miami, FL, USA	nn	
54		Retroviral Mediated Transfer of the Human Multi-Drug Resistance Gene (MDR-1) into Hematopoietic Stem Cells During Autologous Transplantation after intensive Chemotherapy for Breast Cancer	J. O'Shaughnessy	National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	nn	RV
55		Gene Therapy for Recurrent Pediatric Brain Tumors	L.E. Kun	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN, USA & National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA	nn	
56		Pilot Study of Toxicity of Immunization of Patients with Unresectable Melanoma with IL-2 Secreting Allogeneic Human Melanoma Cells	T.K. Das Gupta	University of Illinois at Chicago, Chicago, IL, USA	nn	

57		A Phase I Clinical Trial to Evaluate the Safety and Effects in HIV-1 Infected Humans of Autologous Lymphocytes Transduced with a Ribozyme that Cleaves HIV-1 RNA	F. Wong-Stall	University of California, San Diego, CA, USA	nn	
58	T	Genetically Engineered Autologous Tumor Vaccines Producing Interleukin-2 for the Treatment of Metastatic Melanoma	J.S. Economou	University of California Medical Center, Los Angeles, CA, USA	nn	
59	T	Treatment of Hemophilia B with Autologous Skin Fibroblasts Transduced with a Human Clotting Factor IX cDNA	J.L. Hsueh	Fudan University & Changhai Hospital, Shanghai, CHINA	02.12.91	
60	M	Treatment of Patients with Advanced Cancer Using Tumor Infiltrating Lymphocytes Transduced with the Gene of Resistance to Neomycin	M.C. Favrot	Centre Leon Berard, FRANKREICH	12.12.91	
61	T	Immunization with Interleukin-2 Transfected Melanoma Cells. A Phase I-II Study in Patients with Metastatic Melanoma	S. Osanto	University Hospital Leiden, NIEDERLANDE	11.02.92	

62	T	Treatment of Patients with Severe Combined Immunodeficiency Due to Adenosine Deaminase (ADA) Deficiency by Autologous Transplantation of Genetically Modified T Cells	C. Bordignon	H.S. Raffaele, Milano, ITALIEN	09.03.92	RV
63	T	Treatment of Patients with Severe Combined Immunodeficiency due to Adenosine Deaminase (ADA) Deficiency by Autologous Transplantation of Genetically Modified Bone Marrow Cells	D. Valerio	Institute of Applied Radiobiology and Immunology TNO, NIEDERLANDE	14.03.93	RV

(Nach Mertelsmann et al. 1994, Tabelle 5)

## II. Bekanntmachung der Bundesärztekammer: Richtlinien zur Gentherapie beim Menschen

### BEKANNTMACHUNG DER BUNDESÄRZTEKAMMER

# Richtlinien zur Gentherapie beim Menschen

Stellungnahme der „Zentralen Kommission der Bundesärztekammer zur Wahrung ethischer Grundsätze in der Reproduktionsmedizin, Forschung an menschlichen Embryonen und Gentherapie“

Im Gegensatz zu der a posteriori aufgeflamnten, kontrovers geführten Diskussion um die extrakorporale Fertilisation wurde die Auseinandersetzung über Möglichkeiten, Indikationen und ethische Vertretbarkeit der Gentherapie antizipatorisch, vor Beginn ihrer Machbarkeit begonnen. In ihrem Verlauf bildete sich Konsens darüber, daß eine Gentherapie an Körperzellen (somatische Gentherapie) sich in der ethischen Bewertung nicht von einer Autotransplantation unterscheidet. In den USA haben nach tierexperimentellen Grundlagenuntersuchungen die ersten Vorversuche am Menschen begonnen.

Die Gentherapie in der Keimbahn wird bis heute wegen der an die Vererbbarkeit der neu konstruierten genetischen Information und der an die Möglichkeit eines eugenischen Mißbrauchs geknüpften Bedenken generell abgelehnt. Einzelne neuere Stellungnahmen halten allerdings

eine negative Intervention, das heißt eine auf Krankheitsheilung und -verhütung gerichtete Keimbahntherapie für ethisch vertretbar, nicht dagegen eine positive Intervention, das heißt den Versuch, menschliche Fähigkeiten durch Veränderung der genetischen Strukturen zu steigern. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt scheinen jedoch derartige Vorgehensweisen auf eine noch nicht voraussehbare wissenschaftliche und technologische Entwicklung verfrüht und ein gesellschaftlicher Konsens ausgeschlossen.

Die Bundesärztekammer hat ihre Zentrale Kommission daher gebeten, Richtlinien zur Gentherapie zu erarbeiten, die von dem derzeitigen biologischen und ethischen Erkenntnisstand ausgehen und Handhaben für eine Kontrolle der gentherapeutischen Forschung bieten. Die Richtlinien stehen im Einklang mit den im Jahre 1987 von den Europäischen Medical Research Councils vorgelegten Empfehlungen.



(Dr. K. Vilmar)  
Präsident der Bundesärztekammer und des Deutschen Ärztetages



(Prof. Dr. H. P. Wolff)  
Vorsitzender der Zentralen Kommission der Bundesärztekammer zur Wahrung ethischer Grundsätze in der Reproduktionsmedizin, Forschung an menschlichen Embryonen und Gentherapie

### 1. Definitionen

Unter Gentherapie versteht man die Korrektur krankheitsbedingter Gene durch Anwendung rekombinanter DNA-Techniken. Eine Korrektur kann im Prinzip durchgeführt werden:

a) An Körperzellen (somatische Gentherapie): Defekte Gene in Zellen eines Gewebes oder Organs eines Menschen werden durch den Defekt korrigierende Gene ersetzt. Die Wirkungen sind auf das behandelte Individuum begrenzt.

b) An Zellen der Keimbahn (Keimbahn-Gentherapie): Der einen Gendefekt korrigierende genetische Eingriff wird an Zellen der Keimbahn vorgenommen. Das Ergebnis wird an die nachfolgenden Generationen weitergegeben.

Die Korrektur krankheitsbedingender Defekte im Genom könnte erreicht werden durch

- Einbringen eines zusätzlichen normalen Gens,
- Einbringen eines den Defekt kompensierenden Gens,
- Austausch des defekten Gens gegen ein normales Gen.

Für eine Gentherapie kommen in der Regel nur solche Krankheiten in Frage, deren Ursache im Defekt nur eines Gens liegt (monogene Krankheiten) und die einer der drei vorgenannten Maßnahmen zugänglich sind.

### 2. Somatische Gentherapie

2.1 Heute sind etwa 3000 monogen erbliche Krankheiten bekannt. Einem Teil dieser Erkrankungen liegen diagnostizierbare genetische Defekte zugrunde. Nur einige wenige davon könnten mit den Methoden einer somatischen Gentherapie korrigiert werden. Genetische Defekte, die gegenwärtig für eine somatische Gentherapie in Betracht kämen, sind zum Beispiel Hämoglobinopathien, Immunmangelsyndrome, verschiedene lysosomale Speicherkrankheiten.

Die somatische Gentherapie erscheint derzeit nicht geeignet bei Krankheiten, ▷

- denen ein nicht vollständig geklärter Gendefekt zugrunde liegt,  
- bei denen die Regulation der Expression des normalen Gens sehr komplex ist,

- die sich in therapeutisch nicht erreichbaren Zellsystemen manifestieren oder

- für die andere Heilmethoden zur Verfügung stehen, die weniger invasiv, belastend oder riskant sind.

Gegenwärtig befindet sich die somatische Gentherapie im Versuchsstadium; sie wird am Menschen noch nicht durchgeführt.

2.2 Die somatische Gentherapie stellt eine besondere Form der Substitutionstherapie dar. Während bisher bei dafür geeigneten Krankheiten dem Patienten eine von ihm unzulänglich oder gar nicht gebildete Substanz (Genprodukt) zugeführt wird (zum Beispiel adrenogenitales Syndrom, Hämophilie), soll nun das krankheitsbedingende Gen substituiert werden.

Ihrem Wesen nach wirft diese, zwar auf der Ebene der Erbinformation ansetzende, in ihrer Wirkung aber auf das behandelte Individuum beschränkte Therapie keine neuen ethischen Probleme auf.

2.3 Demzufolge müssen in entsprechender Anwendung der allgemeinen Grundsätze und Vorschriften für Therapieversuche, wie sie sich namentlich aus der Deklaration von Helsinki in der revidierten Fassung von Tokio und Venedig sowie dem Arzneimittelgesetz ergeben, insbesondere folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

a) Der Anwendung am Menschen müssen aussagekräftige Tierversuche zum Nachweis der Wirksamkeit und zur Risikoabschätzung vorausgegangen sein.

b) Es muß eine klare medizinische Indikationsstellung vorliegen.

c) Das Auswahlverfahren der in Frage kommenden Patienten muß offengelegt sein.

d) Es muß ein Forschungs- und Therapieplan vorliegen, der eine pa-

tientenbezogene Risiko-Nutzen-Abwägung beinhaltet sowie mögliche alternative Behandlungsmethoden aufzeigt.

e) Die nach entsprechender Aufklärung erteilte Zustimmung des Patienten beziehungsweise seiner gesetzlichen Vertreter muß vorliegen.

f) Der Schutz der Vertraulichkeit muß garantiert sein.

g) Jedes Vorhaben, das einen gentherapeutischen Eingriff am Menschen beabsichtigt, muß zuvor durch eine von der Bundesärztekammer eingesetzte Ethik-Kommission überprüft werden, die in der Anfangsphase der klinischen Einführung bundesweit arbeitet und ihre Begutachtungstätigkeit mit der „Zentralen Kommission für die biologische Sicherheit“ koordiniert.

h) Über Forschungsergebnisse und Therapieverläufe muß berichtet und Rechenschaft abgelegt werden.

2.4 Speziell zur Risikobegrenzung ist zu beachten, daß die Entwicklung gentechnologischer Methoden erst am Beginn steht und daher die Voraussetzungen für die Anwendung am Menschen zur Zeit auch nicht annähernd vollständig beschreibbar sind. Folgende Anforderungen sind aber bereits jetzt in Betracht zu ziehen, und ihre Erfüllung ist anzustreben:

a) Es muß eine kontrollierte Integration des genetischen Materials gewährleistet sein, um schädliche Wirkungen desselben auf den Genbestand der Wirtszelle zu vermeiden.

b) Die Stabilität der Integration muß gesichert sein.

c) Eine adäquate Regulation der Expression muß gewährleistet sein.

d) Die Gewebsspezifität der Integration ist erforderlich; insbesondere dürfen bei einer somatischen Gentherapie die Keimbahnzellen nicht getroffen werden.

2.5 Bei Beachtung der unter 2.3 und 2.4 genannten Bedingungen sind Versuche einer somatischen Gentherapie als Erweiterung der bisherigen Therapieformen ethisch vertretbar.

### 3. Keimbahngentherapie

Eine Keimbahngentherapie ist schon wegen ihrer zur Zeit unabsehbaren Folgen auf das Individuum und seine Nachkommenschaft ausnahmslos abzulehnen.

#### Mitglieder der Arbeitsgruppe

Frau Prof. Dr. rer. nat. Ch. Fonatsch (Föderführung)

Leiterin der Abt. Tumorzytogenetik  
Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität zu Lübeck

Prof. Dr. H. Grosse-Wilde  
Direktor des Instituts für Immunogenetik der Universität Essen

Prof. Dr. P. Propping  
Direktor des Instituts für Humangenetik der Universität Bonn

Prof. Dr. rer. nat. T. Trautner  
Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin

Prof. Dr. R. Thomssen  
Vorstand der Abteilung Med. Mikrobiologie, Zentrum für Hygiene und Humangenetik der Universität Göttingen

Prof. Dr. H.-B. Wuermeling  
Direktor des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Erlangen

#### Korrespondenzanschrift:

Zentrale Kommission  
der Bundesärztekammer  
Herbert-Lewin-Straße 1  
5000 Köln 41



### III. Aus dem Gutachten von Mertelsmann et al., Universität Freiburg: Zusammenfassung und abschließende Beurteilung

Bei der Gentherapie sind weltweit etwa 100 Protokolle in klinischem Einsatz. Ernsthaftige Nebenwirkungen, die auf den Gentransfer selbst zurückzuführen sind, sind bisher nicht beobachtet worden. Andere, protokollimmanente Nebenwirkungen sind allerdings bei manchen Formen der Therapie beobachtet worden. So sind insbesondere Immunreaktionen bei wiederholter Applikation eines Fremdprotein enthaltenen Gentransfervehikels zu erwarten. Es sind bisher keine Nebenwirkungen durch die eingesetzten Retroviren oder durch andere Gentransfermethoden beim Menschen beobachtet worden. Bezüglich der Wirksamkeit muß von einem klinisch wirksamen Gentransfer, bei Kindern mit Adenosin-Deaminase-Defizienz ausgegangen werden. Eine ganz exakte Beurteilung ist nicht möglich, da die Standardform der Therapie, die Therapie mit PEG-ADA weiterhin aus ethischen Gründen fortgeführt wurde. Die gemessene Verbesserung in den verschiedenen Immunparametern nach Gentransfer legen jedoch den Schluß nahe, daß diese Form der Therapie bei diesen Kindern tatsächlich wirksam gewesen ist. Bei den Untersuchungen zur Vakzinierung gegen Tumorantigene und auch bei den klinischen Studien unter Einsatz von Suizidvektoren sind gewisse erste Hinweise auf eine mögliche Wirksamkeit beobachtet worden.

Insgesamt ist bei der Gentherapie wie bei allen anderen Therapieformen eine Risiko-Nutzen-Abwägung erforderlich unter Berücksichtigung des Individuums, d.h. des betroffenen Patienten sowie seines engeren und weiteren Umfeldes. Diese Überlegungen sind nicht prinzipiell neu. Umgang mit potentiell toxischen und toxischen Substanzen sowie mit potentiell infektiösen und infektiösen Erregern gehören zum Alltag in vielen Krankenhäusern und Laboratorien. Bei dieser Risiko-Nutzen-Abwägung sind nicht nur methodische Details wichtig, sondern es ist insbesondere auch unter dem besonderen Aspekt des Patienten die gegebene klinische Situation zu berücksichtigen. Neue, potentiell riskante Therapieformen sind auch früher schon immer unter Abwägung aller ethischen und klinischen Aspekte zum Einsatz gebracht worden. Heute gehören noch viele Therapien zum klassischen Instrumentarium der modernen Medizin, die mit einem deutlich höheren Risiko assoziiert sind als bei genterapeutischen Ansätzen zu erwarten ist.

Die unerwünschte Freisetzung rekombinanter infektiöser Viren und die Einschleusung neuen genetischen Materials in die Keimbahn sind theoretisch möglich; alle bisher vorliegenden Informationen aus den in-vitro- und tierexperimentellen Voruntersuchungen zur Gentherapie, aber auch aus vielen vergleichbaren klinischen und experimentellen Situationen lassen uns dieses Risiko als extrem gering einschätzen. Das infektiöse Risiko unterscheidet sich nicht von anderen medizinischen Situationen

in denen Patienten Kontakt mit infektiösem Material einschließlich Viren haben. Gefahrenpotential und Vorschriften des Umgangs sind prinzipiell nicht different. Das genetische bzw. mutagene Risiko ist mit dem Einsatz der Chemo- oder Strahlentherapie vergleichbar sowohl hinsichtlich der Beeinflussung somatischer Zellen als auch von Keimzellen. Damit ist das Risikoprofil nicht grundsätzlich anders als das bereits etablierter Therapieformen. Um auch dieses potentielle Risiko so klein wie möglich zu halten, sollten die ersten klinischen Untersuchungen wahrscheinlich mit nicht-viralem Gentransfer ex vivo durchgeführt werden. Hier ist das Risiko für die Umwelt sicherlich als gegen Null gehend einzustufen. Nach entsprechender klinischer Erfahrung könnten dann auch virale Transfektionsmethoden zum Einsatz kommen. Auch wenn wir bei einer theoretisch relativen Risikoabschätzung die nicht-viralen Methoden als am sichersten einstufen würden, nicht-retrovirale biologische Vektoren an die zweite Stelle und retrovirale biologische Vektoren an die dritte Stelle setzen würden, so muß festgehalten werden, daß sich auch Retroviren als außerordentlich sicher in ihrem bisherigen Gebrauch herausgestellt haben [Cornetta, K. et al., 1991; Danos, O. et al., 1988; Gunter, K.C. et al., 1993; Moolten, F. et al., 1992; Temin, H.M., 1990; Varmus, H.E., 1982].

#### IV. Aus dem Gutachten Schendel/Modrow 1993, Universitäten München und Regensburg: Offene Fragen und Perspektiven

In den vergangenen Jahren haben die Methoden und Techniken, die die Einschleusung von Gensequenzen in unterschiedliche Zellsysteme erlauben, erhebliche Fortschritte erfahren. Heute sind experimentelle Ansätze erprobt und einsetzbar, die noch vor wenigen Jahren als utopisch oder nur schwer vorstellbar angesehen wurden und gentherapeutische Ansätze *ex vivo* und *in vivo* auch für humane Erkrankungen in Anwendungsnähe rücken lassen. Trotz dieser bedeutenden Fortschritte sind viele Fragestellungen, die mit diesem gentherapeutischen Ansatz in Verbindung stehen, noch ungeklärt, sie lassen deshalb eine endgültige Abschätzung der Risiken bei der Anwendung im klinischen Bereich nur schwer zu. Einige dieser ungeklärten Probleme sollen im Folgenden kurz angesprochen werden.

Der Einsatz viraler Vektorsysteme, die mit einer stabilen Integration der Nukleinsäuresequenz in das Genom der Zelle verbunden sind, sind zum heutigen Zeitpunkt wegen der damit in Verbindung stehenden offenen Fragen für die Variante der *in vivo* Gentherapie nur schwer vorstellbar. Ungeklärt ist hier nicht nur die Frage der Rezeptorspezifität, die die gezielte Einschleusung von Genen in eine ausgewählte Zellpopulation eines Gesamtorganismus vermitteln soll. Gerade im retroviralen Bereich sind die molekularen und funktionellen Eigenschaften der zellulären Oberflächenkomponenten, die das Virus adsorbieren und ihm so den Eintritt in die Zelle ermöglichen, häufig noch ungeklärt. Jedoch ist auch in den Fällen, in denen die Bindungspartner auf zellulärer wie auf viraler Seite bekannt und im Detail analysiert sind, nicht gewährleistet, so daß tatsächlich nur ein definierter Zelltyp von dem Interaktionsereignis betroffen ist. Spezifische zelluläre Rezeptoren mögen zwar bevorzugt auf der Oberfläche einer bestimmten Zellsorte exprimiert werden, sie sind jedoch auch - wenn auch häufig in geringerer Konzentration - auf anderen Populationen vorhanden und gestatten auch hier eine Einschleusung des fraglichen Gens über die entsprechenden Systeme. Auch ist in anderen Fällen gezeigt worden, daß die Rezeptorerkennung oft nicht sehr spezifisch ist und auch ähnliche Rezeptoren auf unterschiedlichen Zelltypen für die Wechselwirkung in Frage kommen. Beim Einsatz dieser Vektorsysteme *in vivo* kann daher auch die Einschleusung der Transgene in Keimbahnzellen nicht endgültig ausgeschlossen werden.

Neben diesen schwer einzugrenzenden, rezeptorvermittelten Unspezifitäten sind mit dem Integrationsereignis des Transgens in das Genom der Zielzelle bisher ungelöste Probleme verbunden, die eine *in vivo* Therapie über integrative virale Vektorsysteme zum heutigen Zeitpunkt als nicht anwendbar erscheinen lassen. Die verfügbaren retroviralen Vektoren haben eine willkürliche Integration des eingebrachten Gens in

die chromosomale DNA zur Folge, die AAV-abgeleiteten Vektorsysteme führen zwar bevorzugt zur Integration in eine bestimmte Region im Chromosom 19, jedoch sind auch hier viele Fragen zur Spezifität ungeklärt. Was würde beispielweise geschehen, wenn die Stelle bereits von einem AAV-Genom besetzt wäre oder welchen Einfluß hätten die Fremdsequenzen auf den Ort der Integration? So ist das Integrationsereignis mit möglicherweise unvorhersehbaren Auswirkungen für die Zelle und damit auch für den Gesamtorganismus verbunden. Es könnten wichtige zelluläre Funktionen durch Einfügung des Fremdens zerstört werden, zelluläre Gene, im schlimmsten Fall Onkogene, in der Nachbarschaft aktiviert werden, und welche Auswirkung die unterschiedliche Genomumgebung auf die Expression des Transgens hat, ist kaum vorhersagbar. Das Risiko zur Aktivierung von Protoonkogenen bzw. Zerstörung von Tumorsuppressorgenen wurde in Studien über den *in vitro* Gentransfer in unterschiedliche Zellsysteme untersucht und auf eine Wahrscheinlichkeit von  $10^{-16}$  bis  $10^{-19}$  pro eingebrachtes DNA-Molekül geschätzt; hierbei haben aber sicherlich Faktoren in der individuellen Umwelt der betroffenen Zelle und deren genetische Besonderheiten zusätzlichen Einfluß (Temin, 1990; Gray, 1991; Moolten and Cupples, 1992). Bis diese Fragen gelöst sind, d. h. bis zu dem Zeitpunkt, zu dem die Schritte, Mechanismen und Faktoren, die mit einer spezifischen Interaktion auch im Wildtypvirus auf molekularer Ebene verbunden sind, im Detail bekannt und verstanden sind, werden die integrativen Vektorsysteme wohl nur für gentherapeutische Anwendung im *ex vivo* Verfahren in Betracht gezogen werden können. Da die Bewältigung dieser Probleme eng mit neuen Erkenntnissen aus dem Bereich der Grundlagenforschung verbunden sind, und auch die Zeitdauer bis zu ihrer Lösung nur schwer abzuschätzen ist, werden für die Übergangszeit spezielle Vektorsysteme entwickelt, die zusätzliche Information für Gene enthalten, deren Produkte nur bei externer Zuführung eines bestimmten Aktivators synthetisiert werden und zum Absterben der Zelle führen. Dieser Ansatz ermöglicht es, gezielt die gentherapeutisch behandelten Zellen in einem Organismus zu eliminieren, falls diese Tendenzen zur unkontrollierten Proliferation oder zu anderen unerwünschten Konsequenzen führen sollten (Lupton et al. 1991; Borrelli et al. 1988; Palmiter et al. 1987; Plautz et al. 1991). Sollten sich neue Wege zur spezifischen Integration der Transgene abzeichnen, können diese Maßnahmen zur möglichen Kontrolle des Risikos außer Acht gelassen werden (Nickoloff and Reynolds, 1990; Thomas et al. 1986). Alternativ hierzu richtet sich das Interesse auf die Entwicklung von *ex vivo* Ansätzen zur Einbringung von Gensequenzen in Zellkulturen, die bei Reimplantation *in vivo* in der Lage sind zu proliferieren, das zu therapierende Organ neu zu besiedeln oder eine bestimmte Zellpopulation zu ergänzen.

Wegen der großen Zahl an offenen Fragen in Verbindung mit dem Einsatz von viralen Vektorsystemen zur stabilen Veränderung des Genoms der Empfängerzellen, die ja in vielen Fällen insbesondere für die Möglichkeit eines einmaligen Therapieschritts



gewünscht wird und dafür Voraussetzung ist, ist diese Methodik vorerst nur zur Anwendung im *ex vivo* System vorgesehen. Der Erfolg ist hierbei mit der Auswahl von zumindest kurzzeitig kultivierbaren Zellen des Patienten verbunden, in welche es mit den gängigen Techniken möglich ist, Gene einzubringen. Nach erfolgreicher Selektion und Expansion *in vitro* können diese Zellen dann in dasselbe Individuum zurückimplantiert werden. Dieser Prozeß kann bisher mit kalkulierbaren Erfolgsaussichten mit Zellen des hämatopoetischen Systems durchgeführt werden, für viele andere Zelltypen bedürfen die Methoden zur Kultivierung und Züchtung noch einer deutlichen Weiterentwicklung. Auf jeden Fall wird diese Form der Gentherapie jedoch mit einem erheblichem Aufwand für den Einzelfall verbunden bleiben, ihr Einsatz und die damit verbundene Nachsorge wird diese Technik vorerst auf dafür spezialisierte Zentren beschränken, sie wird daher für die allgemein anwendbare Applikation in Kliniken oder Arztpraxen nicht zur Verfügung stehen.

Neben diesen mit Sicherheitsaspekten verbundenen Problemen richten sich viele offene Fragen auf die Thematik, wie die kontrollierte Expression der eingebrachten Genabschnitte ermöglicht werden kann und so gewährleistet ist, daß korrekte Mengen des gewünschten Produktes synthetisiert werden. Für den Patienten sind dabei Fälle, in denen das eingebrachte Transgen (z. B. ein für ein bestimmtes Hormon kodierendes Gen) in höheren Konzentrationen als in Normalzustand produziert wird, meist mit deutlich schwerwiegenderen negativen Auswirkungen verbunden als eine zu geringe oder auch völlig ausbleibende Expression. Letztere wäre hier meist nur mit einem ungenügenden Therapieerfolg verbunden, im Fall der Überproduktion sind jedoch auch tödliche Verläufe nicht auszuschließen, wie erst kürzlich im Tiersystem gezeigt werden konnte (Taniguchi et al. 1992).

Im Idealfall sollte als Zielvorstellung durch die gentherapeutische Maßnahme das defekte Gen zusammen mit den dazugehörigen Kontrollsequenzen für die Regulation der Expression im Genom der Zelle durch eine intakte Form ersetzt werden. Hier wären unerwünschte und unvorhersehbare Einflüsse über die bereits häufig angesprochene Integrationsmutagenese oder über die veränderte genomische Umgebung praktisch ausgeschlossen, und es sollte hier auch gewährleistet sein, daß die Expressionshöhe auch in Abhängigkeit von Zellzyklus und -differenzierung von der Situation im gesunden Organismus nicht zu unterscheiden ist. Diese genaue und spezifische Form der Expression von Transgenen konnte bisher in keinem der durchgeführten Ansätze erreicht werden. Auch zur Bewältigung dieser Problemstellungen sind Ergebnisse aus dem Gebiet der Grundlagenforschung gefragt. Homologe Rekombination muß ablaufen, wenn in einer Empfängerzelle ein Gen spezifisch durch ein eingebrachtes Transgen ersetzt werden soll. Solche homologen Rekombinationseignisse wurden in embryonalen Mausstammzellen durchgeführt, um transgene Mäuse zu generieren. Manipulationen an embryonalen menschlichen Zellen sind hoch umstritten und zurecht mit vielen gesetzlichen Auflagen verbunden. Die für einen



gentherapeutischen Ansatz zur Verfügung stehenden Zellen eines erwachsenen Organismus zeigen jedoch *in vitro* nur eine geringe Tendenz, homologe Rekombinationsereignisse erfolgreich ablaufen zu lassen. Das hat zur Folge, daß auch bei optimalen Selektions- und Kultivierungsbedingungen *in vitro* nur kleine Zellzahlen, die das eingebrachte Transgen an seiner natürlichen Stelle im Chromosom integriert haben, für eine Rückinokulation in den Patienten zur Verfügung stehen werden. Sollten eines Tages die Enzyme und Prozesse, die mit homologen Rekombinationsereignissen verbunden sind, im Detail aufgeklärt und verstanden sein, ist diese Vorgehensweise mit Sicherheit die Methode der Wahl, da nur so vom Prinzip her eine Situation, die der natürlichen entspricht, erreicht werden kann (Nickoloff and Reynolds, 1990; Smithies et al. 1985; Thomas et al. 1986).

In der Übergangsphase muß auf die heute zu Verfügung stehenden Vektorsysteme mit weitgehend unspezifischer Integration des Transgens (eine Ausnahme stellt hier möglicherweise das AAV-System dar) zurückgegriffen werden. Die Transkription und Expression kann jedoch in Abhängigkeit des Integrationsortes stark variieren, auch wenn das fragliche Gen zusammen mit den dazu gehörenden Promotoren und Enhancerelementen in das Genom eingebracht wurde. Dieses Phänomen wird mit dem Einfluß von Positionseffekten erklärt und ist ein Hinweis darauf, daß zusätzliche genetische Elemente (*locus-control regions, lcr*) für eine positionsunabhängige Expression benötigt werden (Grosveld et al. 1987; Collis et al. 1990). Da es sich gezeigt hat, daß diese verschiedenen Elemente im Genom weit verstreut vorliegen können, ist es nötig, daß jedes einzelne, das die Expression eines bestimmten Genes beeinflusst, genauestens identifiziert und charakterisiert wird. Die Einzelelemente müssen dann mit den Promotoren, Enhancersequenzen und dem eigentlichen Gen zu einer kompletten Transkriptionseinheit vereinigt werden und als solche in die Zelle eingebracht werden. Im Fall des  $\beta$ -Globingens konnten alle einzelnen Sequenzelemente in einem retroviralen Vektor kombiniert werden, der die positionsunabhängige Synthese von  $\beta$ -Globin zumindest in einigen Zellen in hoher Konzentration ermöglicht (Novak et al. 1990). Limitierend für einen effizienten Einsatz waren hierbei die niedrigen Konzentrationen an rekombinanten Retroviren, die zu erhalten waren. Hier stößt die mögliche Anwendung an die von den viralen Vektorsystemen vorgegebenen Grenzen, da die Größe der Vektoren, die verpackt werden können, auf eine Länge von ca 10.000 bei rekombinanten Retroviren bzw. 4.000 Basen im AAV-System beschränkt ist.

Für eine erfolgreiche Weiterentwicklung müssen daher Strategien verfolgt werden, die die Eigenschaften der Rezeptor-vermittelten Liposomensysteme, die auch sehr große Nukleinsäurefragmente übertragen können mit den integrativen Charakteristika der viralen Systeme verbinden (Mulligan, 1993). Bei genauerer Kenntnis der Integrationsmechanismen können möglicherweise auch Sequenzen im menschlichen Genom identifiziert werden, die die Transgene zu transkriptionell wenig aktiven Chromoso-

menregionen dirigieren, so daß gewährleistet ist, daß zelluläre Gene durch die Integration nicht zerstört werden und andererseits auch keine unerwünschten positionsabhängigen Einflüsse auf die Expression des eingebrachten Gens ausgeübt werden. Als eine weitere Möglichkeit zu neuen Entwicklungen bietet sich der Gentransfer über artifizielle Hefechromosomen (YAC, yeast artificial chromosome) an. Erst kürzlich konnte gezeigt werden daß mit diesem System sehr große DNA-Stücke mit einer Länge von 250.000 Basenpaaren in ES-Zellen eingebracht werden können. So konnten transgene Mäuse generiert werden, in denen solch große transkriptionelle Einheiten in intakter Form ins Genom integriert wurden und so eine regulierte Genexpression ermöglichten (Strauss et al. 1993; Jakobovits et al. 1993; Schedl et al. 1993; Capecchi, 1993). Diese neue Technik eröffnet daher die Möglichkeit zur Übertragung großer Genabschnitte, die alle Kontrollelemente überspannen, auch wenn diese sehr weit voneinander entfernt sind. Auch Gene, die aus multiplen Exon- und Intronabschnitten aufgebaut sind, könnten hier in einem Konstrukt übertragen werden, womit auch sichergestellt wäre, daß die ganze notwendige Information für die Synthese stabiler Transkripte - eine Grundvoraussetzung für die erfolgreiche Genterapie - mit beinhaltet ist. Sollte sich erweisen, daß diese YAC als Vektorsysteme einfach und gut auch im menschlichen System einsetzbar sind, entfällt möglicherweise auch die sonst obligate Notwendigkeit zur Identifizierung aller einzelnen Elemente, die für eine kontrollierte Expression des jeweiligen Gens nötig sind (Palmiter et al. 1991).

## V. Aus dem Gutachten Tappeser/Panholzer, Öko-Institut e.V. Freiburg: Zusammenfassung und Abschätzung der Einsatzmöglichkeiten und der Anwendungsfelder gentherapeutischer Behandlung

Trotz vieler technischer und konzeptioneller Probleme sowie wenigen Erfolgsmeldungen ist die Gentherapie auf dem Vormarsch. Seit der ersten gentherapeutischen Behandlung des erblich bedingten ADA-Mangels im Jahr 1990 in den USA sind bis heute (Stand: August 1993) weltweit 26 Therapieprotokolle an Patienten durchgeführt worden, 21 davon alleine in den USA (Hum. Gene Ther., 1993a). Weitere 32 Protokolle sind bewilligt (Fox, 1993). Auch in der Bundesrepublik Deutschland soll in diesem Jahr erstmals ein Gentherapieversuch zur Krebsbehandlung, unter der Leitung von Prof. R. Mertelsmann an der Freiburger Universitätsklinik, durchgeführt werden. Drei weitere deutsche Arbeitsgruppen bereiten sich auf gentherapeutische Behandlungen unterschiedlicher Krankheiten vor (Zell, 1993a).

Bei den bisher durchgeführten Gentherapieversuchen müssen "echte" gentherapeutische Experimente und Heilversuche monogen bedingter Erbkrankheiten von solchen unterschieden werden, bei denen der Gentransfer zu einer Erprobung neuer Formen intrakorporaler Medikation, wie z.B. in der Krebsbekämpfung dient. Letztere zählen auch zur Gentherapie, obwohl es sich nicht um die Substitution defekter Gene und damit nicht um eine kausale, sondern symptomatische Therapie handelt. Obwohl bisher keine Heilerfolge durch gentherapeutische Behandlungen gemeldet werden konnten, wird die Gentherapie dennoch auf immer mehr Patienten und Krankheitsbilder ausgeweitet. Die Ursache für die geringe Effizienz der Eingriffe liegt unter anderem in der mangelnden methodischen Reife der Gentransferverfahren begründet. Zur Zeit handelt es sich bei gentherapeutischen Behandlungen immer noch um experimentelle Eingriffe, deren tatsächliche Effizienz ebenso unbewiesen ist wie deren langfristige Ungefährlichkeit. Die technischen Probleme und die Risiken der Gentransfermethoden waren schon bei dem ersten Experiment im Jahr 1990 Gegenstand heftiger Kontroversen. Grundlagenforscher, die vorwiegend an den Prinzipien biologischer Vorgänge interessiert sind, wollten erst durch weitere Experimente sicherstellen, daß die Genübertragung effizient und zuverlässig ist. Mediziner hingegen, die täglich mit dem Leid ihrer Patienten konfrontiert sind, hielten das Verfahren für genügend ausgereift, um es in die Praxis umzusetzen. Die heutigen Probleme sind nahezu die gleichen wie vor drei Jahren.

Die Gentransfermethode mit Hilfe retroviraler Vektoren ist zur Zeit am weitesten entwickelt und wird für einen Einsatz in der Gentherapie favorisiert. Ihre Anwendung kann eine hohe Transfektionseffizienz und eine stabile Integration der Fremd-DNA ermöglichen. Diesem technischen Vorteil steht jedoch ein spezifisches Gefahrenpo-

tential gegenüber. Hierbei handelt es sich um Gefahren, die sowohl den Patienten als auch die Umwelt betreffen können. Durch den Einbau retroviraler Vektoren in das Erbmaterial des behandelten Patienten kann die Funktion einzelner Gene oder Regulationsmechanismen gestört werden. Es kann unter anderem auch zu einer Aktivierung von Krebsgenen, den sogenannten Proto-Onkogenen kommen, wodurch die Wahrscheinlichkeit einer späteren Krebsentstehung erhöht werden kann (siehe Kapitel 4.2). Bereits der ungezielte Einbau eines neuen Gens kann also durch eine Veränderung im Erbmaterial zu schädlichen Positionseffekten führen, und dadurch die Funktion der Zielzelle in unbeabsichtigter Weise verändern. Neben diesen negativen Auswirkungen können retrovirale Vektorsequenzen auch mit endogenen retroviralen Sequenzen des Wirtsgenoms rekombinieren und replikationsfähige und/oder neue rekombinante Viren bilden und freisetzen (siehe Kapitel 4.3.1). Diese Viren könnten auch als Erreger neuer Krankheiten auf andere Menschen übertragen werden, was weitreichende nicht abschätzbare Konsequenzen zur Folge haben kann. Dies ist unter anderem dadurch bedingt, daß die Ausbreitung von Viren sich nicht lokal begrenzen läßt und einmal freigesetzte Viren sich nicht wieder "einfangen" lassen. Kommt es bei gentherapeutischen Eingriffen zu einer Freisetzung von Viren, kann auch nicht ausgeschlossen werden, daß diese in die Keimbahn gelangen und von Generation zu Generation weitervererbt werden.

Da retrovirale Vektoren für einen Einsatz in der Gentherapie problematisch sind und sie nur proliferierende Zellen effizient infizieren können, gewinnen in zunehmendem Maße Vektoren, die auf Adenoviren basieren, für den Gentransfer an Bedeutung. Sie können ein breites Spektrum unterschiedlicher Zellen und auch ruhende Zellen infizieren. Darüber hinaus können sie bei einem *in vivo* Gentransfer angewendet werden, wodurch auf den zeitaufwendigen *in vitro* Gentransfer verzichtet werden kann. Anders als retrovirale Vektoren existieren adenovirale Vektoren in der Zelle jedoch überwiegend in einem extrachromosomalen Zustand. Die Anwendung dieser Vektoren in der Gentherapie ist ungenügend untersucht. Es sind bereits einige gravierende Sicherheitsprobleme aufgetreten, die einerseits eine geringfügige Vermehrungsfähigkeit der Vektoren und andererseits die Expression viraler Genprodukte betreffen. Die Expression viraler Genprodukte kann beispielsweise zytotoxische Wirkungen auf die Zielzelle haben und sie kann eine Immunantwort hervorrufen, die sich gegen die behandelten Zellen oder Gewebe richtet. Adenovirale Vektorsequenzen können in den Wirtszellen auch mit Sequenzen von Wildtyp-Adenoviren rekombinieren, die natürliche Krankheitserreger z.B. von Atemwegserkrankungen sind, wodurch replikationsfähige und/oder neue rekombinante Viren gebildet und freigesetzt werden können. Weiterhin können Wildtyp-Adenoviren auch durch Komplementation Proteine für eine virale Vektorvermehrung und für deren Verpackung in Viruspartikel zur Verfügung stellen. Über die Atemwege können so neu gebildete



Viren auf leichte Weise freigesetzt und verbreitet werden, was ein großes Gefahrenpotential beinhaltet.

Neben Retro- und Adenoviren werden noch weitere Viren, z.B. Herpes-Simplex Viren, als Vektorkandidaten für einen Einsatz in der Gentherapie diskutiert. Mit ihnen sind sowohl ähnliche bereits genannte als auch von Fall zu Fall spezifische Risiken verbunden. Aufgrund der vielen Sicherheitsprobleme von viralen Vektoren werden zunehmend solche Vektoren erforscht, die mit Hilfe physikalisch/chemischer Methoden in die Zielzellen eingeschleust werden können. Diese Methoden finden zur Zeit wenig Anwendung, da sie oftmals eine geringe Transfektionseffizienz und eine größere Instabilität des transferierten Gens und ihrer Genexpression aufweisen. Viele der mit viralen Vektoren verbundenen Risiken können durch den Einsatz nicht-viraler Vektoren vermieden werden. Das Auftreten negativer Positionseffekte ist jedoch auch hier nicht auszuschließen, da sich auch nicht-virale Vektoren in das Genom der Wirtszelle einbauen müssen, um dauerhaft wirksam werden zu können. Die Auswirkungen negativer Positionseffekte bleiben voraussichtlich auf den Patienten beschränkt und haben somit keine weitreichenden Konsequenzen für die Umwelt.

Die Sicherheitsprobleme, die durch die Anwendung jeglicher Gentransfermethoden aufgeworfen werden, sind bisher noch keineswegs gelöst. Werden die Gentransfermethoden mit viralen Vektoren etabliert und ausgeweitet und in standardisierten Verfahren zur Behandlung häufig vorkommender, erworbener Krankheiten eingesetzt, würden viele Patienten mit gentechnisch verändertem, viralen Erbmaterial behandelt werden. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft ist jedoch abzusehen, daß sich diese Vektoren verändern und sogar durch Rekombinations- oder Komplementationsvorgänge neue Viren gebildet und freigesetzt werden können. Dies kann gefährliche Auswirkungen für den Patienten und die Umwelt haben, die nicht mehr rückgängig gemacht werden können. Eine wesentliche Schwierigkeit bei der Beurteilung einer gesundheitlichen Gefährdung von Patient und/oder Umwelt durch einen gentherapeutischen Eingriff liegt unter anderem auch darin begründet, daß lange Latenzzeiten zwischen dem Eingriff und dem Ausbruch einer Krankheit liegen können. Da die im Moment häufig für die Experimente ausgesuchten, schwerkranken Patienten zum Zeitpunkt des Eingriffs oftmals keine lange Lebenserwartung mehr haben, bleibt der Beobachtungszeitraum meist nur auf wenige Monate begrenzt, d.h. speziell bezogen auf mögliche Langzeitr Risiken läßt das derzeitige experimentelle Design keine Rückschlüsse zu. Bei Tierversuchen ist der Beobachtungszeitraum ebenso meist kurz und beträgt in Ausnahmefällen z.B. bei Affen wenige Jahre. Aufgrund des Risikopotentials der zur Zeit angewendeten Gentransfermethoden kann nicht nachdrücklich genug gefragt werden, bei welchen Krankheiten und unter welchen Bedingungen diese Methoden angewendet werden sollen und welches Risiko dabei in Kauf genommen werden soll (Kollek, 1993). Die meisten Krankheiten können mit konventionellen Behandlungsmethoden therapiert werden, was vielfach zu befriedigenden



Erfolgen führt. In diesen Fällen ist die Anwendung gentherapeutischer Maßnahmen wegen der damit verbundenen Risiken unverantwortlich. Eine gentherapeutische Behandlung sollte zunächst auf eindeutig definierbare, monogene, anders nicht behandelbare Krankheiten beschränkt werden, wenn sich der Gentransfer in analogen Tiermodellen als hilfreich erwiesen hat. Ein prophylaktischer Einsatz, wie er z.B. in Zusammenhang mit HIV-Infektionen erwogen wird, erscheint auf dem Hintergrund der vielen ungelösten Sicherheitsfragen vollständig indiskutabel. Hier gibt es genügend andere Wege der Prophylaxe (Aufklärung, Kondombenutzung etc.), die sicher deutlich effektiver, risikofreier und kostengünstiger sind.

Neben den Problemen zur Sicherheit von Gentransfermethoden sind auch noch viele technische Probleme ungelöst, die unter anderem die Transfektionseffizienz und die stabile dauerhafte Genexpression betreffen. So müssen beispielsweise noch grundlegende wissenschaftliche Fragen zur Regulation der Genexpression geklärt werden. Eine zellspezifische Genregulation ist bei vielen Krankheiten die Voraussetzung für einen Heilerfolg. Über die Faktoren, die die Genexpression steuern, ist bisher nur wenig bekannt. Selbst wenn ein transferiertes Gen in Zellkultur eine hohe Genexpression zeigt, kann diese nach Zelltransplantation in den Körper des Patienten zurückgehen oder sogar verschwinden. Zur Aufklärung der Genregulation sind noch einige Anstrengungen im Bereich der Grundlagenforschung erforderlich.

Bislang ist die Gewinnung und Manipulation von Zielzellen auf bestimmte, dafür geeignete Zelltypen beschränkt. Es werden häufig Zellen genetisch manipuliert, die nach einigen Wochen absterben, wie beispielsweise Blutlymphozyten, so daß eine Gentherapie in bestimmter zeitlicher Abfolge wiederholt werden muß. Darum suchen Wissenschaftler nach potentiell unsterblichen Stammzellen oder Vorläuferzellen, da nur diese Gruppen ein fremdes Gen auf Dauer an alle Tochterzellen weitergeben können. Es ist bisher noch nicht gelungen, die langlebigen Stammzellen des blutbildenden Systems in genügender Menge zu isolieren und zu transfektieren.

Die Anwendung gentherapeutischer Verfahren zur Krankheitsbekämpfung ist beim heutigen Entwicklungsstand nicht nur unsicher und wenig effizient, sondern auch mit hohen Kosten verbunden. Diese entstehen unter anderem durch die zeitaufwendigen, intensiven Laborarbeiten des *in vitro* Gentransfers. Die Laborarbeiten können pro Patient und Eingriff einige Monate in Anspruch nehmen. Bevor der Gentransfer nicht vereinfacht und kostengünstiger durchgeführt werden kann, ist eine weitreichende Anwendung gentherapeutischer Maßnahmen auch aus Kostengründen problematisch. Die Nutzung der Gentherapie könnte wahrscheinlich nur auf Kosten anderer etablierter Therapieverfahren erfolgen. Zumindest legt die derzeitige finanzielle Situation unseres Gesundheitssystems eine solche Vermutung nahe.

Trotz der vielschichtigen Schwierigkeiten bei der Durchführung gentherapeutischer Behandlungen folgen immer mehr Länder dem amerikanischen Beispiel und steigen in die Gentherapie ein. Da neue therapeutische Möglichkeiten aus der Gentherapie erwartet werden, wollen viele Länder den Anschluß an diese neue Technologie nicht verpassen. Mehrere pharmazeutische Firmen planen bereits Gentherapie-Experimente, wie beispielsweise der Chemie- und Pharmakonzern Bayer, der zusammen mit der US-amerikanischen Biotech-Firma Viagene in San Diego eine Gentherapie-Experiment zur Behandlung der Bluterkrankheit durchführen will (Expertengespräch, 1993). Auch die schweizerischen Pharmakonzerne zeigen verstärkt Interesse an der Gentherapie (Zell, 1993b). Ein Hauptinteresse der Industrie an der Gentherapie liegt wohl darin begründet, eigene Patente z.B auf Genabschnitte zu erhalten, um somit einen zukünftigen Marktanteil zu sichern. Professor Waldeck von der Boehringer AG äußerte sich bei einem Expertengespräch folgendermaßen: "Wollen wir in Deutschland ein patentiertes Gen nutzen, so müssen wir neben vielfältigen eigenen Aufwendungen eine Lizenz teuer bezahlen, wenn wir sie überhaupt erhalten; meistens aber müssen wir die Produkte importieren und teuer bezahlen" (Expertengespräch 1993). Hierbei stellt sich die Frage, ob es aus einem wirtschaftlichen Interesse heraus gerechtfertigt ist, mit ungenügend erforschten Methoden, die eine Reihe von Sicherheitsproblemen aufwerfen, in die Gentherapie einzusteigen.

Solange die Gentherapie in der zur Zeit praktizierten Weise ausgeführt wird, kann sie nicht als erfolgreiche Therapieform zur Behandlung von Krankheiten bezeichnet werden, da zuviele ungeklärte Probleme mit der Durchführung gentherapeutischer Behandlungen verbunden sind. Wie zuvor schon ausgeführt, handelt es sich hierbei um Probleme, die sowohl die Methoden, die damit verbundenen Risiken und das Nicht-Verständnis biologischer Vorgänge betreffen, als auch um den zeitlichen Aufwand und die Kostenfrage. Bevor mit Hilfe der Gentherapie Krankheiten durch einen einmaligen genetischen Eingriff geheilt werden können, ist noch ein weiter Weg in der Grundlagenforschung zurückzulegen. Nur wenn es gelingt, Vektoren zu entwickeln, die sicher und effizient direkt in den Patienten injiziert werden können, kann die Gentherapie eventuell in der Medizin als Standardtherapie für einige wenige, schwere Krankheiten angewendet werden. Diese Vektoren müssen sowohl für bestimmte Zelltypen spezifisch sein, sicher nur in diese eindringen als auch ihre genetische Information stabil an einem sicheren Ort in das Genom der Zielzelle integrieren und durch normale physiologische Signale reguliert werden (Anderson, 1992b). Ob und wann ein derartiger wissenschaftlicher Fortschritt möglich ist und zum Erfolg führen kann, ist bei dem momentanen Stand der Forschung nicht abzusehen.

Es besteht aber die Gefahr, daß aufgrund der Euphorie über die Gentherapie als neue Form der Krankheitsbekämpfung andere erfolgversprechende Forschungen und Behandlungsansätze vernachlässigt werden. Hier sollten über die staatliche For-

schungspolitik vielfältige Behandlungsansätze und Methoden gefördert werden, um eine Beschränkung alleine auf molekularbiologische Ansätze zu vermeiden und zukünftige Weiterentwicklungen auf anderen Gebieten zu ermöglichen.

Zur Zeit existieren nur vereinzelt wissenschaftlich nachvollziehbare Dokumentationen über den Verlauf genterapeutischer Eingriffe. Diese sind aber unbedingt erforderlich, um die Qualität und die Ergebnisse der Behandlungen auf empirisch abgesicherter Grundlage beurteilen und ihre Praxisrelevanz überprüfen zu können.

## VI. Positionspapier des Verbandes der Chemischen Industrie e.V. (VCI) zur Gentherapie

VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE e.V.



18. März 1994

### Positionspapier zur Gentherapie

Gegenwärtig zeichnet sich ab, daß gentherapeutische Ansätze das Stadium der experimentellen Grundlagenforschung verlassen und in die klinische experimentelle Phase eintreten. Die somatische Gentherapie am Menschen steht somit noch in ihren Anfängen; als Routineverfahren wird sie voraussichtlich in 5 bis 15 Jahren zur Verfügung stehen.

Nur wenige im Verband der Chemischen Industrie vertretene deutsche Unternehmen sind bislang experimentell auf dem Gebiet der Gentherapie tätig. Als Anwendungsmöglichkeiten stehen vor allem monogenetische Krankheiten zur Diskussion. Als Indikationsgebiete für die Behandlung mit somatischer Gentherapie zeichnen sich derzeit insbesondere Tumorerkrankungen, Autoimmunerkrankungen sowie angeborene Stoffwechselerkrankungen ab. Denkbare Methoden zur Durchführung der somatischen Gentherapie sind neben der Transformation von autologen Körperzellen in vitro die Entwicklung (bzw. Weiterentwicklung) von viralen und retroviralen Transfersystemen.

Chancen zur Anwendung der somatischen Gentherapie sehen wir vor allem bei jungen Menschen mit der Zielsetzung, genetische Krankheitsursachen zu heilen oder Krankheitszustände zu mildern. Auf längere Sicht wird die Gentherapie deshalb etablierte Behandlungskonzepte teilweise ersetzen und sich darüber hinaus auch als wirtschaftliche Therapieform anbieten.

Risiken der somatischen Gentherapie sind als Nebenwirkungen gleichzusetzen mit denen von Organtransplantationen bzw. der Impfstoffanwendung. Beim Einsatz von transformierten autologen Zellen muß durch die Konstruktion des Vektors sichergestellt sein, daß dieser sich weder horizontal noch vertikal ausbreiten kann. Bei Transformation und Expansion von autologen Zellen in vitro muß gewährleistet sein, daß die Zellen nicht immunologisch verändert oder maligne transformiert werden.

Die praktische Durchführung der somatischen Gentherapie ist sicherlich nur als Teamarbeit (behandelnder Facharzt in Kooperation mit Molekularbiologen, Mikrobiologen, Virologen) in baulich und apparativ gut ausgestatteten Laboratorien und medizinischen Einrichtungen (Krankenhäuser) denkbar.

Bei der somatischen Gentherapie sehen wir keinen zusätzlichen gesetzgeberischen Handlungsbedarf. Die einschlägigen Vorgaben des Embryonenschutzgesetzes, des Gentechnikgesetzes und des Arzneimittelgesetzes sind umfassend und deshalb völlig ausreichend. Darüber hinaus sind unseres Wissens EU-Regelungen in Vorbereitung, die ein harmonisiertes Vorgehen in Europa anstreben. Einen Alleingang Deutschlands lehnen wir deshalb ab.

# Glossar

## **AAV**

Adeno-assoziiertes Virus; ein Vektorsystem zum Einschleusen von DNA in Zellen.

## **ADA-Defekt**

Adenosin-Desaminase-Defekt. Schwere angeborene Schädigung des Immunsystems eines Kindes. Für diese Kinder ist jede Infektion tödlich. Sie müssen daher unter einem sterilen Zelt leben. Mit Knochenmarkübertragungen, medikamentösen Behandlungen mit ADA und ersten Versuchen somatischer Gentherapie wird versucht, die Bildung des kindlichen Immunsystems anzuregen.

## **Aktivität von Genen**

ein Prozeß, der Grundlage für die Proteinbiosynthese ist, und sie in Gang bringt.

## **Alzheimersche Krankheit**

um das 50. Lebensjahr auftretende, erblich bedingte Krankheit, die unaufhaltsam zu völliger Geistesschwäche führt.

## **Antigen**

eine Substanz, die im Organismus die Produktion von Antikörpern hervorruft.

## **Antikörper**

lösliche Serumproteine (Immunglobuline), die als Antwort auf die Gegenwart eines Antigens von Zellen des Immunsystems, den B-Lymphozyten, gebildet werden.

## **Anti-sense-RNA**

die RNA-Kopie eines DNA- oder RNA-Stranges; da die Kopie selbst nicht für ein Protein kodiert, sondern nur das Gegenstück zu einem kodierenden, "sinnmachenden" Abschnitt bildet, wird sie "anti-sense"-RNA genannt; sie kann sich an komplementäre Nukleinsäureabschnitte binden und sowohl deren Verdoppelung als auch deren "Übersetzung" in ein Eiweiß hemmen.

## **Applikation**

Verabreichung, z.B. von Substanzen für die Behandlung einer Krankheit.

## **Arteriosklerose**

Gefäßerkrankung, Verengung von Arterien durch Einlagerungen.

## **Base**

hier: Teil der DNA; die Abfolge der Basen (Sequenz) ist der Code, mit dessen Hilfe Proteine gebildet werden.

## **Blastozyste**

früher Embryo, der aus 64 bis 128 noch undifferenzierten Zellen besteht.

## **Bronchialkarzinom**

Lungenkrebs.

## **Chorea Huntington**

"Veitstanz": eine sich erkennbar zwischen dem 25. und 55. Lebensjahr ausbildende, erbliche Krankheit, die über fortschreitende, nicht therapierbare Gehirnschädigung tödlich verläuft.



**Chromosom**

fadenförmige "Verpackungs- und Transportform" der Gene im Zellkern, in dem die DNA im Komplex mit Proteinen aufgewunden ist; der Mensch hat 23 verschiedene Chromosomen, die in den Somazellen doppelt vorhanden sind (diploid), in den Keimzellen nur einfach (haploid).

**Codon**

Folge von Nukleotiden auf einem DNA- oder RNA-Molekül, die nach den Regeln des genetischen Codes den Einbau einer Aminosäure in ein Eiweißmolekül steuern.

**DNA**

Trägerin der Erbinformation (engl.: Deoxyribonucleic acid; deutsch: Desoxyribonukleinsäure: DNS): Moleküle, die die Erbinformation als genetische Codes verschlüsselt enthalten; der genetische Code entsteht durch Dreier-Kombinationen von den vier verschiedenen Basen, die mit jeweils einem Zucker- und einem Phosphorsäure-Molekül Grundbausteine der DNA (Nukleotide) sind.

**dominant**

Eigenschaft eines Merkmals, sich gegenüber einer alternativen Form auf dem zweiten, entsprechenden (homologen) Gen durchzusetzen (Gegenteil: rezessiv).

**Enzyme**

Proteine, die als Katalysatoren wirken und stoffliche Umsetzungsprozesse in der Zelle beschleunigen.

**Eugenik**

Lehre von der Verbesserung der Erbanlagen einer ganzen Bevölkerung, z.B. durch Einschränkung der Ausbreitung von Erbkrankheiten oder Förderung gewünschter Erbanlagen.

**Expression von Genen**

Umsetzen der genetischen Information eines Gens in das entsprechende Eiweiß.

**extrachromosomal**

DNA, die nicht Bestandteil von Chromosomen ist, sondern außerhalb von diesen im Zellkern vorliegt, zum Beispiel als ringförmig geschlossenes Plasmid.

**familiäre Hypercholesterinämie**

erblich mitbedingter extrem hoher Cholesteringehalt des Blutes. Daraus ergibt sich eine hohe Gefahr für Lebererkrankungen und Arteriosklerose.

**Gen**

Abschnitt auf einem Chromosom, der für die Bildung eines Proteins benötigt wird; außer den kodierenden Bereichen enthält er noch andere Regionen, die zum Beispiel die biologische Aktivität dieses DNA-Abschnittes regulieren.

**Genom**

das gesamte genetische Material einer Zelle, die Erbsubstanz eines Organismus; der Begriff wird auch auf Viren angewendet.

**Genotyp**

genetische Konstitution eines Lebewesens.

**Helfervirus**

Virus, das nötig ist, damit sich ein anderes Virus in einer Wirtszelle vermehren kann.

**HGPRT**

Enzym des Harnsäurestoffwechsels, dessen Störung zum Lesch-Nyhan-Syndrom führen kann (Name: Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase).

**in vitro**

auch ex vivo: "im Reagenzglas", außerhalb des Körpers.

**in vivo**

im Körper.

**Insertions- oder Integrationsmutagenese**

Mutationen, die dadurch entstehen können, daß neue Gene in einen bestehenden DNA-Strang eingefügt werden. Dadurch kann es zur Unterbrechung bzw. Zerstörungen von den ursprünglich am Insertionsort liegenden Genen kommen, es kann die Regulation von Genen gestört werden, und es kann zu einer Veränderung des Rasters kommen, nach dem die DNA abgelesen wird. Dadurch kann das "Programm" der Zelle durcheinandergebracht werden und es können im Extremfall Krebszellen entstehen.

**Keimbahn(-zellen)**

Zellen, die die Erbinformation an die nächste Generation weitergeben. Ein Eingriff in die Keimbahnzellen betrifft also alle Nachkommen dieses Lebewesens, wohingegen ein Eingriff in die übrigen Körperzellen (sog. somatische Zellen) nur das jeweils behandelte Individuum betrifft.

**Keimzellen**

Geschlechtszellen (Ei- und Samenzellen), die beim Menschen nur einen einfachen Chromosomensatz enthalten.

**klinische Prüfung**

Prüfung eines Medikamentes vor seiner Zulassung auf Wirkung und Nebenwirkungen.

**Klonieren von DNA bzw. Genen**

Einschleusen und Neukombination meist fremder DNA in Einzelzellen und deren anschließende Vermehrung, bei der die übertragene DNA und Gene jeweils mitverdoppelt werden.

**Lesch-Nyhan-Syndrom**

Erbliche Störung des Harnsäurestoffwechsels, die sich u.a. in Fehlfunktionen des Zentralen Nervensystems (Gehirn) und Selbstbeschädigungstendenzen der Lippen und Finger äußert.

**Ligand**

spezifischer Bindungspartner (Signal) eines Rezeptors (Schlüssel-Schloß-Prinzip, bei dem der Ligand der Schlüssel ist).

**Liposomen**

kleine Hohlkugeln aus Lipiden, einer fettähnlichen Substanzen, aus denen auch die Oberflächen von Zellen bestehen. Hier: maßgeschneiderte "Fettkügelchen" zur Aufnahme von fremden Genen für die Gentherapie.

**Lymphozyten**

Weißer Blutzellen, die zum Immunsystem des Menschen gehören.

**maligne**

bösartig, z.B. malignes Melanom: bösartiger Hauttumor.

**Marker**

genetisches Merkmal, das sich gut feststellen läßt. Damit kann z.B. der Verbleib eines Gens im Körper eines Patienten verfolgt werden.

**Melanom**

Tumor.

**monogenes Merkmal**

Merkmal, das auf die Wirkung nur eines Gens zurückzuführen ist.

**Mukoviszidose**

siehe "Zystische Fibrose".

**Mutation/mutieren**

Veränderung/verändern der DNA. Es kann sich dabei um den Austausch nur einer Base handeln, aber auch um die Addition oder den Verlust längerer DNA-Sequenzen.

**Neurone**

Nervenzellen.

**Nukleinsäuren**

hier synonym zu DNA und RNA gebraucht. Nukleinsäuren bilden die Erbsubstanz und sind Träger der genetischen Information.

**onkogen**

Krebs auslösend.

**Parkinson-Syndrom**

Degeneration von Nerven im Gehirn, verursacht durch eine Kombination von genetischen und umweltbedingten Auslösefaktoren. Daraus folgen Störungen der Sprache und der Bewegungsmotorik.

**pathogen**

krankheitsauslösend.

**Peptid**

kurzkettiges Eiweißmolekül.

**Phänotyp**

äußeres Erscheinungsbild eines Lebewesens, wie es aufgrund seiner Erbanlagen und - durch die Umwelt beeinflusst - ausgeprägt ist.

**polygenes Merkmal**

Merkmal (gesund oder krankhaft), das auf die Aktivität mehrerer Gene zurückzuführen ist.

**Prävention**

Vorbeugung, Vorsorge.

**Proteine**

Eiweißkörper.

**Replikation von DNA**

Verdoppelung der DNA; Verb: replizieren.

**rezessiv**

genetische Eigenschaft eines Merkmals oder Gens, die nur dann zum Tragen kommt, wenn auch die zweite Kopie dieses Gens im Körper eines Menschen diese Eigenschaft aufweist. Liegen in einer Zelle die dominante und die rezessive Form eines Gens vor, so wird nur die dominante Form als Merkmal ausgebildet.

**Retrovirus**

einzelsträngiges RNA-Virus, das seine Erbsubstanz in doppelsträngige DNA umschreiben und diese in das Genom der Wirtszelle integrieren kann. Beim Menschen können diese Viren Blutkrebs (Leukämie) und AIDS auslösen.

**RNA: Ribonukleinsäure(n)**

Nukleinsäuren, die wie DNA die Erbsubstanz bilden können (zum Beispiel bei Viren) oder auch Zwischenprodukte bei der Eiweißsynthese (zum Beispiel Transkripte) darstellen. Sie unterscheiden sich von DNA in der Art ihres Aufbaus (des Zuckers und in einer Base).

**Rezeptor**

Signalempfänger an der Oberfläche von Zellen, an den ein Wirkstoff (Ligand) spezifisch bindet (das "Schloß" im Schlüssel-Schloß-Modell).

**Ribozyme**

Ribonukleinsäuren mit anti-sense-Charakter, die entweder sich selbst oder andere Nukleinsäuren spalten können und damit ähnlich wie Enzyme katalytische Aktivität besitzen.

**somatisch**

hier: nur Körperzellen (nicht Keimbahnzellen) betreffend.

**Somazellen**

alle Körperzellen außer den Geschlechtszellen. Sie sind diploid (s.o.) und haben damit 46 Chromosomen, im Gegensatz zu Ei- oder Samenzelle (23 Chromosomen).

**Therapie**

Behandlung einer Krankheit.

**toxisch**

giftig.

**Transfektion**

Einführung von DNA in intakte, lebende Zellen (Verb: transfizieren).

**transgene Tiere**

Tiere, die mit Hilfe gentechnischer Methoden genetisch verändert worden sind und diese Veränderung an ihre Nachkommen weitergeben können.

**T-Zell-Lymphom**

Krebsgeschwür in Lymphknoten aus T-Zellen.

**Vektor**

ein Transportmittel (Genfähre) für DNA-Abschnitte, die mit dessen Hilfe in andere Zellen eingeschleust werden sollen.

**Virus**

ein Zellparasit, der Zellen eines Organismus befällt und dort bei der Vermehrung die Wirtszelle zerstören kann. Dadurch kann eine Erkrankung des Organismus (Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere und Menschen) ausgelöst werden.

**Wirtszelle**

eine Zelle, die Wirtsfunktion hat, zum Beispiel für subzelluläre Partikel wie Viren, aber auch für fremde DNA.

**Zellkern**

Ort, an dem sich bei pflanzlichen und tierischen Zellen der Hauptteil der DNA befindet. Er ist durch eine Membran vom Rest der Zelle, dem Zytoplasma, abgegrenzt.

**Zystische Fibrose**

auch Mukoviszidose genannt; erhebliche Stoffwechselstörung, die meist schon im Kindesalter zu schweren Komplikationen der Atem- und Verdauungswege führt. Bei Früherkennung im Neugeborenenalter und konsequenter Therapie können die meisten Patienten das Erwachsenenalter erreichen.

**Zytoplasma**

Nichtstrukturierter Teil einer Zelle (Zellsaft), in dem die Stoffwechselreaktionen ablaufen.







