



Labortest: Bayer-Forscher Philip Ramsey untersucht Blutproben an einem Gerät für Gerinnungsdiagnostik auf mögliche Blutgerinnsel. Er will herausfinden, wieso bei manchen Menschen das Gleichgewicht aus Gerinnungsfaktoren und Gerinnungshemmern gestört ist.

NEUE THERAPIEANSÄTZE FÜR ERBKRAKHEITEN

Genchirurgie gegen Bluterkrankheit

Hämophilie A ist eine Erbkrankheit, deren Ursache im Defekt eines genau erforschten Gens liegt. Damit eignet sich die sogenannte Bluterkrankheit besonders gut für eine Gentherapie, also den gezielten Eingriff in das Erbgut menschlicher Zellen. Bayer-Experten arbeiten daran, die Krankheit mit dieser Methode zu behandeln oder gar zu heilen. Und sie verfolgen weitere vielversprechende Ideen, die das Leben von Menschen mit Hämophilie A erleichtern sollen.

80

Prozent der Menschen mit Hämophilie haben einen Gendefekt für den Gerinnungsfaktor VIII.

Quelle: National Hemophilia Foundation



Angriffspunkte für Therapien: Die Chromosomen (Bild links) von Patienten mit erbter Hämophilie A tragen ein defektes Faktor-VIII-Gen, dieses könnte gentherapeutisch repariert werden. Eine andere Strategie verfolgen Dr. Nils Pfaff (Foto rechts) und sein Team in Wuppertal. Sie wollen Proteine hemmen, die die Blutgerinnung bremsen.

Ab ca. 1940

Blutplasma-Infusionen im Krankenhaus

Hämophilie-Patienten können bei einer akuten Blutung erstmals mit Blutplasma von gesunden Spendern behandelt werden. Die Infusion dauert mehrere Stunden und erfordert häufig einen Krankenhausaufenthalt.



„Die größte Chance von CRISPR/Cas9 ist sicherlich, dass wir die Technologie nutzen könnten, um genetische Erkrankungen zu behandeln.“

Prof. Dr. Emmanuelle Charpentier, Direktorin am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin

Menschen mit Hämophilie leben in ständiger Gefahr: Schon ein Schnitt beim Rasieren oder ein kleiner Kratzer können lebensbedrohlich sein. Aus einer Hautabschürfung, die gesunde Menschen einfach mit einem Heftpflaster überkleben, sickert bei den betroffenen Personen stundenlang Blut, da keine Gerinnung stattfindet. Schon ein leichter Stoß kann bei Bluterkranken – also Patienten mit Hämophilie A – starke Blutungen unter der Haut verursachen. Wenn sich die Gefäße nicht verschließen, kann Blut auch ins Innere von Gelenken fließen. Bei Patienten, die nicht effektiv behandelt werden, können durch diese ständigen Einblutungen in Knie, Sprunggelenke oder Ellenbogen chronische Schäden entstehen. Das Gelenk schwillt an, entzündet sich und verursacht starke Schmerzen. In der Folge entstehen Gelenkerkrankungen, Gelenkverschleiß oder Muskelschwächen, und die Betroffenen sind auf Gehhilfen oder den Rollstuhl angewiesen. Blutungen in lebenswichtigen Organen wie dem Gehirn, können dabei sogar akut lebensbedrohend werden.

Weltweit leiden rund 320.000 Menschen an Hämophilie A, der häufigsten Form der Hämophilie-Erkrankung. Zwei von drei Betroffenen haben die Erkrankung geerbt (siehe Textbox, S. 50). Ihr Erbgut unterscheidet sich in nur einem kleinen Detail vom Gros der Menschheit: Ihr Gen, das für die Herstellung des Blutgerinnungsfaktors VIII verantwortlich ist, ist defekt. Ohne diesen Faktor VIII funktioniert die Gerinnung nicht mehr korrekt.

Patienten können heute mit der Krankheit leben, wenn sie sich regelmäßig den Gerinnungs-

faktor VIII spritzen. Die Injektionen erfolgen direkt in die Vene – und das ein Leben lang, täglich oder mehrmals pro Woche. Da dies für die Betroffenen belastend ist, arbeiten Forscher daran, Gentherapien für die Hämophilie zu entwickeln. Damit könnten sie die Lebensqualität der Patienten nicht nur verbessern; sie könnten Menschen mit Hämophilie am Ende sogar heilen.

Es gibt verschiedene Wege, Gene zu reparieren

Das Prinzip einer Gentherapie beruht darauf, eine intakte Kopie des erkrankten Gens in die Zellen von Patienten einzuschleusen. Das eingeführte Gen kann dann an die Stelle des defekten Gens treten und so, im Falle der Hämophilie A, die Herstellung des Gerinnungsfaktors VIII initiieren.

Dieses Gen ist genau bekannt und kann im Labor hergestellt werden. Doch was so simpel klingt, stellt Biotechnologen weltweit bislang vor große Herausforderungen: Das Gen muss in die Zelle transportiert werden. Hierfür wird ein Transportsystem benötigt, ein sogenannter Vektor.

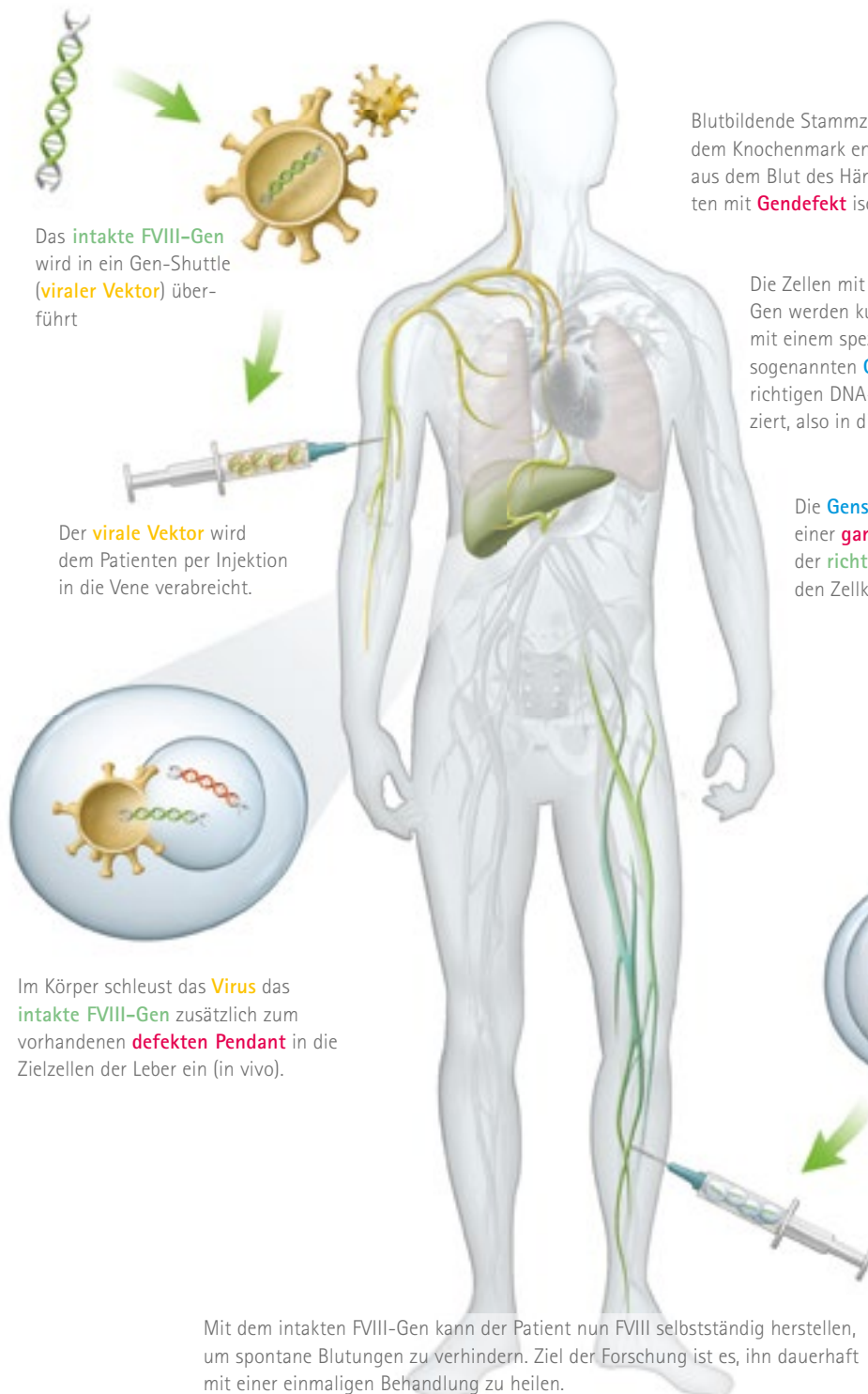
Bayer versucht mit Partnern, den Traum von der Gentherapie auf zwei Wegen zu realisieren: klassisch, durch Einfügen einer intakten Gensequenz, und per Gen-Editierung, also durch Austausch der defekten Sequenz gegen einen gesunden Abschnitt mittels einer Genschere (siehe Infografik, S. 49).

„Bei der klassischen Methode verpacken wir die intakte Gensequenz in eine Virushülle. Dabei

Zwei Methoden der Gentherapie

Eine Gentherapie eignet sich vor allem für Patienten mit einer gut erforschten Krankheit, die auf einem einzigen genetischen Defekt beruht. Ziel ist dann, eine gesunde Version des defekten Gens ins Erbgut der Patienten einzuschleusen und so den Defekt auszugleichen. Die Grafik zeigt zwei Ansätze, die derzeit von Bayer untersucht werden. Mit beiden soll erreicht werden, dass Patienten mit Hämophilie A in Zukunft wieder selbst ausreichende Mengen des Gerinnungsfaktors VIII (FVIII) produzieren können.

Vektorbasierte Gentherapie im Patienten (in vivo)



CRISPR/Cas9: Gen-Editing in der Zellkultur (ex vivo)

Blutbildende Stammzellen werden aus dem Knochenmark entnommen oder aus dem Blut des Hämophilie-Patienten mit **Gendefekt** isoliert.

Die Zellen mit dem defekten FVIII-Gen werden kultiviert und dann mit einem speziellen Enzym – der sogenannten **Genschere** – und dem richtigen DNA-Abschnitt transfiziert, also in die Zellen eingeführt.

Die **Genschere** schneidet die DNA an einer **ganz bestimmten Stelle** und der **richtige DNA-Abschnitt** wird in den Zellkern eingeschleust.

Das **intakte FVIII-Gen** wird integriert.

Nach der Korrektur des **FVIII-Gens** werden die Zellen vermehrt, getestet und anschließend dem Patienten wieder in die Venen injiziert: Ziel ist das Knochenmark.



Gentherapien von Grund auf entwickeln: Mamle Quarmyme, ehemals Postdoc bei Bayer, arbeitet heute bei Casebia Therapeutics in San Francisco, einem Joint Venture von Bayer und dem Unternehmen CRISPR Therapeutics an neuen Therapien für Hämophilie mit der CRISPR/Cas9-Technologie.

1965

Ambulante Behandlung möglich

Ein neues Verfahren – die sogenannte Kryofällung – reduziert das Volumen der notwendigen Plasma-Infusionen und ermöglicht erstmals eine ambulante Behandlung. Außerdem können nun erstmals Operationen an Menschen mit Hämophilie durchgeführt werden.

1970er-Jahre

Beginn der Heimtherapie

Mediziner schulen ihre Patienten immer mehr darin, sich die Faktor-VIII-Präparate selbst zu spritzen. Diese neue Therapieoption steigert vor allem die Lebensqualität der Patienten.

verwenden wir eine Gruppe von Viren, die keine Krankheit auslösen, sondern Gene in Zellen einschleusen können", erklärt Dr. Frank Reetz, Global Program Head bei der Bayer-Division Pharmaceuticals. Der im Labor hergestellte Virus-Shuttle wird in die Blutbahn injiziert, dringt in die Körperzellen, vor allem in Leberzellen, ein und setzt dort das intakte Gen frei. Die Folge: Der Gendefekt wird ausgeglichen, und die Zelle kann mithilfe des eingeschleusten Gens den Gerinnungsfaktor VIII nun selbst produzieren. Um diese Form der Gentherapie zu entwickeln, kooperiert Bayer mit dem US-Biotech-Unternehmen Dimension Therapeutics (siehe Interview, S. 53). Die dortigen Experten haben bereits viel Erfahrung auf dem

sich entwickelnden Gebiet der Gentherapie gesammelt – von der Forschung über die Herstellung eines „Genwirkstoffes“ bis hin zur frühen klinischen Entwicklung. „Ziel der Zusammenarbeit von Bayer mit Dimension Therapeutics ist es, eine Gentherapie für Patienten mit Hämophilie A zu entwickeln“, erklärt Reetz. Er und seine Kollegen hoffen, dass die Gentherapie die Belastung durch die Krankheit, wie regelmäßige intravenöse Injektionen, mindert und dadurch die Lebensqualität der Patienten erhöht wird. Ein weiterer Vorteil: Im Körper würde der Gerinnungsfaktor kontinuierlich gebildet und sein Gehalt im Blut weniger schwanken als bei einer Injektion. Dadurch wären die Betroffenen besser geschützt. „Doch bis dahin

Hämophilie, eine Erbkrankheit

Hämophilie A ist eine Erbkrankheit, von der vor allem Männer betroffen sind, im Schnitt einer von 5.000. Der Grund: Das Gen für den Gerinnungsfaktor VIII liegt auf dem X-Chromosom. Da Männer nur ein X-Chromosom haben, kommt ein Fehler im Faktor-VIII-Gen sofort zum Tragen. Frauen hingegen haben zwei X-Chromosomen und damit zwei Gene für Faktor VIII. Ist eines davon defekt, gleicht das zweite X-Chromosom den Fehler aus. Betroffene Frauen produzieren ausreichend Faktor VIII und entwickeln keine Gerinnungsstörung. Sie können die Anlage für die Erbkrankheit allerdings an ihre Nachkommen weitergeben. In zwei Dritteln der Fälle sind die Ursachen einer Hämophilie vererbt.

Bei etwa einem Drittel der Betroffenen gibt es bislang keine bekannten Hämophilie-Patienten in der Familie. Experten vermuten bei ihnen spontane Mutationen als Krankheitsursache.

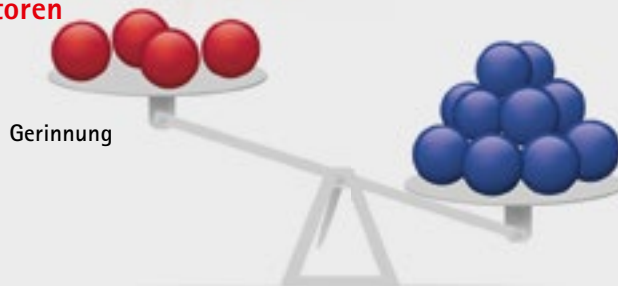
Hämophilie direkt im Blut bekämpfen

Im menschlichen Körper herrscht ein empfindliches Gleichgewicht, das zuverlässig vor großen Blutverlusten schützt, aber auch die Bildung von Blutgerinnseln am falschen Ort verhindert. Bei Hämophilie-Patienten ist dieses Gleichgewicht gestört. Bayer-Forscher arbeiten an zwei grundsätzlich verschiedenen Ideen, die Balance auf beiden Seiten der Waagschale wiederherzustellen.



Bei Hämophilie-Patienten stimmt die Balance im Blut nicht mehr: Der Mangel an Faktor VIII stört das Gleichgewicht aus **Gerinnungsfaktoren** und **Gerinnungshemmern**. Das verhindert eine zuverlässige Blutgerinnung.

Gerinnungsfaktoren

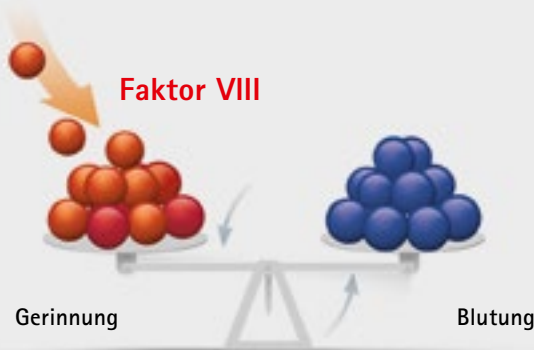


Gerinnung

Gerinnungshemmer

Blutung

Ersatztherapie mit **Faktor VIII**

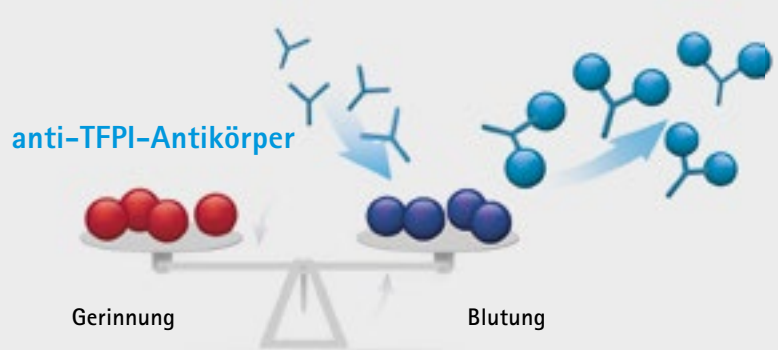


Faktor VIII

Gerinnung

Blutung

Blocken von **Gerinnungshemmer TFPI**



anti-TFPI-Antikörper

Gerinnung

Blutung

Bei der Ersatztherapie mit **Faktor VIII** injizieren sich die Patienten den fehlenden **Gerinnungsfaktor** selbst direkt ins Blut. Das Gerinnungssystem gerät so wieder ins Gleichgewicht. Blutungen können regulär gestoppt werden.

Die Therapie mit dem **anti-TFPI-Antikörper** zielt auf die Seite der Gerinnungshemmer: Der Antikörper fängt den **Gerinnungshemmer TFPI** ab und sorgt so wieder für die Balance in der Blutgerinnung.





Im Verbund forschen: Dr. Peter Nell (Foto links) treibt bei Casebia Therapeutics die Entwicklung von Gentherapien per Gen-Editierung voran. Die Bayer-Forscherinnen Jinger Xie (Foto rechts, v. re.) und Post-doc Ana Pereira untersuchen Proben.

1984

Erfolgreiche Klonierung des Faktor-VIII-Gens

Das Gen des lebenswichtigen Gerinnungsfaktors kann erstmals im Labor vervielfältigt werden. Damit wird die gentechnische Produktion von Faktor VIII möglich und das Risiko einer Übertragung von Viruserkrankungen dramatisch reduziert.

ist es noch ein weiter Weg“, warnt Reetz vor überzogenen Hoffnungen.

Eine andere Form der Gentherapie beruht auf der Entdeckung einer molekularen Genschere mit dem Namen CRISPR/Cas9. Mit der Methode der sogenannten Gen-Editierung wollen die Forscher den defekten Teil des Gens ausschneiden und durch ein intaktes neues Segment ersetzen – also das Gen vollständig reparieren.

Die CRISPR/Cas9-Methode schneidet DNA an genau definierten Stellen

Die CRISPR/Cas9-Methode schneidet DNA an genau definierten Stellen. Bayer hat das immense Potenzial dieser Technologie erkannt, die einen Durchbruch bei der Behandlung genetisch bedingter Erkrankungen darstellen könnte, und hat ein Joint Venture mit dem Schweizer Unternehmen CRISPR Therapeutics unter dem Namen „Casebia Therapeutics“ gegründet. Prof. Emmanuelle Charpentier, Direktorin am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie in Berlin, hat die Genschere CRISPR/Cas9 mitentwickelt. Dafür erhielt die Französin unter anderem den Familie-Hansen-Preis (s. research 29, „Genschere gegen Erbkrankheiten“).

Das Revolutionäre an der CRISPR/Cas9-Methode: Die optimierte Genschere schneidet die DNA exakt an der Stelle im Genom, die Wissenschaftler zuvor ausgewählt haben. „Damit können wir erstmals eine defekte Gensequenz gezielt ansteuern und genau an dieser Stelle

der Erbinformation schneiden“, erklärt Dr. Peter Nell, Head Strategy & Business Development bei Casebia Therapeutics in San Francisco, USA. Eine zusätzlich mitgelieferte gesunde Gensequenz schließt die Lücke – und korrigiert den Gendefekt. Aber Nell bleibt Realist: „Diese junge Methode ist faszinierend und bietet ein unheimliches Potenzial, muss sich aber zunächst noch in vielen Tests bewähren, ehe sie an Patienten zum Einsatz kommen wird.“ Doch er sieht große Chancen, dass sie eines Tages die Reparatur kranken Erbgutes – nicht nur bei Menschen mit Hämophilie – ermöglichen wird.

Zusätzlich zur Gentherapie suchen Bayer-Forscher nach alternativen Behandlungsoptionen, die die Blutgerinnung verbessern. Die Hämostase, also der natürliche Prozess, der Blutungen zum Stillstand bringt, ist ein fein austariertes Wechselspiel aus Gerinnungsfaktoren und Gerinnungshemmern. Dieses System eröffnet den Bayer-Forschern einen weiteren Ansatzpunkt zur Therapie von Hä-

Äußerste Sorgfalt: Bei der Produktion von Medikamenten gegen Hämophilie müssen hohe Standards eingehalten werden. Bayer-Mitarbeiterin Ashiana Ali inspiziert Ampullen mit einem bereits erhältlichen Medikament vor der Verpackung.



„Eine Gentherapie könnte in Zukunft die Lebensqualität von Patienten deutlich verbessern.“

Dr. Frank Reetz,
Global Program Head, Bayer



**Annalisa
Jenkins**

„Ziele für Gentherapien“

„research“ sprach mit Dr. Annalisa Jenkins, Chief Executive Officer von Dimension Therapeutics. Das Unternehmen entwickelt gemeinsam mit Bayer eine Gentherapie für Hämophilie A.

mophilie A, der derzeit in einer klinischen Studie getestet wird. Die Idee: Statt das Gleichgewicht durch intravenöse Gabe des Gerinnungsfaktors VIII herzustellen, kann man ebenso die körpereigenen Gerinnungshemmer blockieren, die die Blutungsneigung fördern (siehe Infografik, S. 51). Werden diese Hemmstoffe außer Kraft gesetzt, kann das Blut wieder leichter gerinnen und Blutungen werden gestoppt. „Angriffspunkte für diesen Ansatz sind Anti-Gerinnungsfaktoren wie TFPI, der sogenannte Tissue Factor Pathway Inhibitor“, sagt Dr. Nils Pfaff, Wissenschaftler in der Herz-Kreislauf-Forschung bei Bayer. TFPI ist bei gesunden Menschen einer von mehreren Gerinnungshemmern in der Blutgerinnungskaskade.

Die Blutgerinnung des Menschen ist ein heikler Balanceakt – Forscher müssen exakt arbeiten

„Indem wir auf TFPI zielen, helfen wir, das Blutgerinnungssystem der Hämophilie-Patienten zurück in Balance zu bringen und eine normalisierte Gerinnung wiederzuerlangen“, erklärt Pfaff. Das Team aus Bayer-Forschern hat einen spezifischen Antikörper gegen TFPI identifiziert, der das Eiweißmolekül an zwei unterschiedlichen Stellen bindet. Aktuell befindet sich die Therapie bereits in einer klinischen Phase-I-Studie, also in ersten Tests an Hämophilie-Patienten. Pfaff und seine Kollegen haben ihre Hausaufgaben dafür sorgfältig erledigt: „In der Studie arbeiten wir mit spezifischen Biomarkern, die es ermöglichen, die Wirksamkeit und Sicherheit dieses Mechanismus zu bewerten.“ Die Studie wird mit größter Vorsicht durchgeführt. Denn die Blutgerinnung ist und bleibt ein Balanceakt: Verschiebt sich das Gleichgewicht zu sehr in Richtung Gerinnung, steigt das Risiko unerwünschter Blutgerinnsel. Doch über jahrzehntelange Forschung auf dem Gebiet haben die Bayer-Forscher das sichere Balancieren im Blutsystem gelernt. ■

Welche Krankheiten eignen sich für eine Gentherapie?

Wir haben dafür sorgfältig und systematisch Kriterien entwickelt. So zielen wir momentan auf Erkrankungen, die von nur einem einzigen Gen verursacht werden. Der Entstehungsprozess der Krankheit muss gut verstanden sein. Und es muss Daten aus klinischer Erfahrung oder präklinischen Studien geben, die nahelegen, dass eine Wiederherstellung der Genfunktion von fünf bis zehn Prozent bereits klinisch bedeutsam und somit auch vorteilhaft für die Patienten ist. Konkret arbeiten wir zum Beispiel an Hämophilie A sowie an Stoffwechsel-Erbkrankheiten.

Warum kooperieren Sie mit Bayer?

Neben finanziellen Vereinbarungen schätzen wir vor allem die Erfahrung von Bayer auf dem Gebiet der Hämophilie. Außerdem profitieren wir von dem bestehenden Netzwerk aus Ärzten, Meinungsbildnern und Zulassungsbehörden für die klinische Entwicklung.

