

## Kirmo Wartiovaara

LT, perinnöllisyyslääketieteen erikoislääkäri, HUS, kliininen genetiikka  
Kantasolubiologian dosentti, Helsingin yliopisto, kantasolut ja metabolia-tutkimusohjelma



Solujen toiminnan ohjaaminen geenimuokkauksella mahdollistaa monia bioteknisiä sovelluksia, joiden avulla voidaan muuttaa elollisten olentojen toimintaa. Lääketieteessä tämä tarkoittaa mm. uudenlaisten hoitojen kehittämistä, joissa sairauden syynä oleva DNA-tason virhe voidaan parantaa jopa pysyvästi. Soluja muokkaamalla voidaan hoitaa tai ehkäistä myös hankittuja tauteja, kuten syöpiä ja infektioita. CRISPR-Cas9 ”geenisakset” sopivat myös erittäin herkkään diagnostiikkaan. Geenimuokkausta käyttävät hoidot eivät ole vielä markkinoilla, mutta käynnissä on kymmeniä potilaskokeita ja alan tutkimus on intensiivistä. Monista lupaavista saavutuksista odotetaan innokkaasti pitkän ajan tuloksia. Tekniikoihin liittyy edelleen avoimia regulatorisia, eettisiä ja kaupallisia kysymyksiä.

# Geenisakset ja geenimuokkaus

## Geenien muokkaus ohjaa soluja

Solut noudattavat sisällään olevia, DNA-kirjaimilla kirjoitettuja geenien ohjeita. Solujen toimintaan, ja esimerkiksi niiden aiheuttamiin sairauksiin, voidaan vaikuttaa muuttamalla tätä DNA-tekstiä eli perimää. Bioteknologiassa on jo pitkään muokattu esitumalisten, kuten bakteerisolujen genomia, ja viime vuosikymmeninä on opittu tekemään sama myös aiotumallisissa soluissa. Tässä artikkelissa keskitytään lähinnä ihmisen soluihin, mutta on hyvä muistaa, että muut eukaryootit eli kasvit, eläimet ja sienet muodostavat koko elinympäristömme ja esimerkiksi pohjan yhteiskunnan ruuantuotannolle ja monelle taloudelliselle toimialalle. Erilaisia terveyteemme vaikuttavia mikrobejakin on lukematon määrä. Muiden lajien geenien muokkaamisella voidaan siis helposti saada erilaisia vaikutuksia myös meidän hyvinvoinnillemme.

Tänä vuonna on kulunut 30 vuotta ensimmäisestä hoitokokeesta, jossa potilaalle palautettiin hänen omia, muutettuja solujaan, joihin oli laitettu ylimääräisenä kopiona haluttu pätkä DNA:ta eli toimiva geeni (1). Geeniterapiaa on tämän jälkeen tehty yli neljässä tuhannessa kliinisessä kokeessa, mutta lääkinnällisiä geenituotteita EU:ssa on kuitenkin myynnissä vain kuusi. Kaikki

tuotteet perustuvat siirtogeenitekniikkaan, ja kolme niistä on tarkoitettu perinnöllisiin tauteihin ja kolme syövän immuuniterapiaan. Geenimuokkaus eroaa näistä siirtogeneillä tapahtuvasta terapiosta siinä, että soluun ei välttämättä siirretä uutta geenikopiota, vaan siinä jo olevaa geeniä muokataan. Tällöin solu itse huolehtii geenin säätelystä, eikä genomiin tehdä umpimähkäisiä lisäyksiä, joiden vaikutuksia ei aina tiedetä. Parhaassa tapauksessa geenimuokkauksella vain korjataan esimerkiksi perinnöllisen sairauden syy kohdesoluissa, kuten veren kantasoluissa (2).

Geenimuokkausta voidaan tehdä eri menetelmillä: joko soluviljelmässä in vitro tai suoraan elimistössä eli in vivo. Keskeistä muokkauksessa on se, että solun sisällä löydetään oikea kohta genomista, vertauskuvallisesti samalla tavalla kuin tietokoneella tekstiä editoidessa kursori viedään oikeaan kohtaan. Biologiassa DNA-tekstiin sitoutuu tietty proteiini, useimmiten nukleaasi. Osaamme rakentaa ja seuloa tarkasti DNA-kohdesekvenssiin sitoutuvia, bioteknisesti hiukan toisistaan poikkeavia mega-, sinkkisormi (ZFN)- tai TALEN-nukleaaseja, joiden kaikkien sovellukset ovat kliinisissä kokeissa. Geenisaksiksi kutsuttava CRISPR-Cas9-tekniikka (3)



taas eroaa kaikista edellisistä siinä, että nukleasina toimivaa Cas9-proteiinia ei tarvitse joka kerta rakentaa alusta sitoutumaan uuteen DNA-sekvenssiin, vaan aina sama nukleasiproteiini ohjataan kohteeseensa RNA-molekyylin avulla. Synteettinen RNA on helppo valmistaa, mikä tekee CRISPR-Cas9:n huomattavasti nopeammaksi ja halvemmaksi kuin yksilöllisen nukleasiproteiinin valmistus.

Kaikki geenimuokkausmenetelmät toimivat sekä soluviljelmässä että koe-eläimissä. Mikään niistä ei kuitenkaan ole saanut vielä myyntilupaa, sillä turvallisuuden ja tehon selvittämiseen vaadittavat potilaskokeet ovat vielä kesken. Huhtikuussa 2020 eri tekniikoilla tehtäviä rekisteröityjä geenimuokkauksen klinisiä kokeita on meneillään noin nelisenkymmentä (4).

### Mihin geenimuokkausta käytetään?

Geenejä muokkaamalla soluun voi kirjoittaa melkein mitä tahansa biologisia ohjeita, joten periaatteessa vain mielikuvitus rajaa käytön mahdollisuudet. Toiset asiat ovat teknisesti helpompia kuin toiset, ja lääketieteessä tärkeämmät ongelmat ohjaavat rahoitusta ja tutkimusta. Yli puolet kliinisissä kokeissa olevista geenimuokkauksista liittyy yleisiin hankittuihin sairauksiin, lähinnä syövän hoitoon ja infektioidiin. Pahanlaatuista kasvua yritetään hoitaa muokkaamalla immuunisoluja ärhäkämmiksi tai liittämällä niihin geenejä, jotka koodaavat syöpää tunnistavia reseptoreja, kuten CAR-molekyylejä. Infektioita voidaan hillitä poistamalla soluista esimerkiksi viruksen reseptorigeenejä, kuten HIV:n käyttämää CCR5-

molekyylä (5). Joidenkin virusinfektioiden syöpää aiheuttavia geeni-insertioita voidaan pilkkoa potilaan soluista, ja kokeilussa on mm. HPV-infektion jälkeinen paikallishoito.

Perinnöllisiä sairauksia tunnetaan tuhansia ja suuri osa niistä on harvinaisia, mikä rajoittaa mm. rahoitusmahdol-

lisuuksia uusien hoitojen kehitykselle. Esimerkiksi hemoglobiinigeenin virheistä johtuvia tauteja sairastaa kuitenkin maailmanlaajuisesti kymme-

niä miljoonia potilaita. Helpoimpia ja pisimmälle pääseitä hoitokohteita ovatkin juuri hematologiset taudit, sillä geenimuokkaus sopii erittäin hyvin sellaisten geneettisten sairauksien hoitoon, joissa kohdekudos on uusiutuvaa. Pitkäaikaistuloksia ei vielä ole, mutta muutamia aikaisemmin vaikeasti sairai-

» **Helpoimpia ja pisimmälle pääseitä hoitokohteita ovat hematologiset taudit.**

ta talassemia- ja sirppisolautipotilaita on parantunut sillä, että heidän sikiökautisen hemoglobiinin (HbF) tuotantonsa on aktivoitu uudelleen CRISPR-Cas9 tekniikoilla (6).

Toinen hoidoissa pitkälle edennyt ryhmä on systeemiset metaboliset taudit, joissa potilaan voi ajatella parantuvan, kunhan hän saa riittävän määrän toimivia soluja, jotka tuottavat verenkiertoon tarvittavaa entsyymiä tai metaboliittia tai ja poistavat haitta-aineita. Metabolisten tautien hoitojen kohdekuksena on usein maksa, mutta joitain entsyymejä eritetään myös muualta. Maksasoluihin kohdistuva hoito täytyy toteuttaa in vivo, ja se onkin edennyt potilaskokeisiin ZFN-tekniikalla mukopolysakkaridoosi II-kertymäsairaudessa (7) ja hemofiassa. Samoin kehitteillä on kolesterolia alentavien tekijöiden aktivointi geneettisin keinoin.

Suuri osa perinnöllisistä taudeista aiheuttaa kehityksellisiä tai rakenteellisia muutoksia, joiden korjaaminen jälkikäteen on vaikeaa tai mahdotonta, varsinkin jos kyse on uusiutumattomasta kudoksesta. Joidenkin hitaasti uusiutuvien kudosten, kuten lihasten toimintaa voidaan kuitenkin parantaa, mikäli muokkaus saadaan tehtyä tarpeeksi suuren osaan soluja (8).

### Mitä ei tiedetä?

Geenimuokkaukseen ei ole liittynyt vakavia akuutteja haittavaikutuksia eläinkokeissa tai faasi 1 turvallisuuskokeissa. Varsinkin immunologisia ongelmia pidettiin mahdollisina, sillä osassa tekniikoita käytetään bakteeriperäisiä proteiineja, joille löydettiin myös vastaaineita. Geenimuokattuja soluja löytyy kuitenkin potilaista vähintään 9 kk ajan, joten näyttää siltä, että hoitotekniikka on siedettyä. Turvallisuuteen liittyy toki myös se, mitä geeniä muokataan,

siis minkälaiseksi hoidettu solu muuttuu. Esimerkiksi maligniteetin riski voi selvitä vasta pitkän ajan kuluttua. Tässä vaiheessa emme kuitenkaan vielä tiedä, kuinka suuria riskejä geenimuokkaushoitoihin liittyy.

Haittavaikutusten riskien suuruus riippuu käytettävistä menetelmistä. Mitä hankalammin saavutettava on taudin kohdesolu, sitä todennäköisempää on, että myös hoidossa joudutaan käyttämään suuria annoksia esimerkiksi viruksia, joilla muokkaustyökalut saadaan solujen sisälle. Parhaita tekniikoita eri kudoksille, soluille ja taudeille etsitään ja tulokset paranevat vähitellen.

Geenilääketieteessä nousee usein esiin mahdollinen perinnöllisten muutosten tahaton tai tahallinen tuottaminen. Vahingossa tapahtuvaa periytyvien muutosten riskiä pidetään pienenä, eikä sukusolujen tai koko alkion hoito ole tällä hetkellä luvallista suuressa osassa maista. Maailmasta löytyy silti edelleen toimijoita, jotka haluavat parantaa ihmisen perimää ja keskustelu asiasta jatkuu (9). Pidän itse melko todennäköisenä, että kunhan tekniikat kehittyvät, tulevaisuudessa myös yhteisesti hyväksytty perinnöllinen geenimuokkaus on mahdollista. Eettisten kysymysten ratkaiseminen ei kuitenkaan ole helppoa, ja yhteiskunnallinen ajattelu muuttuu hitaasti. Toinen vaikea ja jo näköpiirissä oleva ongelma on uusien, mahdollisesti pysyviin parantumisiin johtavan lääketietyksen oikeudenmukainen hinnoittelu. Tässäkin asiassa on monta puolta, ja on todennäköistä, että eri maissa, kulttuureissa ja terveydenhuoltojärjestelmissä päädytään erilaisiin ratkaisuihin.

### Lopuksi

Geeniterapialla ja -muokkauksella voidaan jo hoitaa aiemmin parantumattomia sairauksia, ja niillä kehitetään

jatkuvasti parempia hoitoja nykyisten rinnalle. Ala on voimakkaassa kasvussa, ja tutkimustyöhön käytetään vuosittain miljardeja. Koska nukleiinihappoja on kaikkien eliöiden sisällä, hoitomahdollisuuksien lisäksi DNA:han tarkasti kohdentuvista työkaluista on osattu tehdä myös hyvin herkkiä diagnostisia testejä, tuotteita bakteerien päänmenoksi, uusia elintarvikkeita ja muokattuja kotieläimiä - ja kehitys on vasta alussa. Esimerkiksi geenien säätelyyn liittyvät tekniikat, joissa ei muuteta itse DNA-emäsjärjestystä vaan sen lukemista, ovat kehittymässä kovaa vauhtia. On todennäköistä, että seuraavien vuosien aikana myös hyväksytyjen lääkinnällisten tuotteiden määrä moninkertaistuu, mutta solujen toiminnan parempi ymmärtäminen ja siitä opittava muokattu parantaminen ei lopu vielä pitkään aikaan.

### Kirjallisuutta:

1. Wirth T, ym. (2013) History of gene therapy. *Gene* 525:162-169
2. Douna J (2020) The promise and challenge of therapeutic genome editing *Nature* 578: 229-236
3. Jinek M, ym. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337: 816-821.
4. www.clinicaltrials.gov. Haettu 12.4.2020.
5. Tebas P, ym. (2014) Gene Editing of CCR5 in Autologous CD4 T Cells of Persons Infected with HIV. *N Engl J Med* 2014; 370:901-910
6. Antoniani C, ym. (2018). Induction of fetal hemoglobin synthesis by CRISPR/Cas9-mediated editing of the human  $\gamma$ -globin locus. *Blood* 131, 1960-1973.
7. Harmatz P, ym (2018). Update on phase 1/2 clinical trials for MPS I and MPS II using ZFN-mediated in vivo genome editing. *Molecular Genetics and Metabolism* 123:2 559-560
8. Amoasii L, ym. (2018). Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Science* 362, 86-91
9. Cyranoski D (2019) Russian 'CRISPR-baby' scientist has started editing genes in human eggs with goal of altering deaf gene. *Nature News* 18 October 2019. www.nature.com