

Fem genombrott för hematologin

Vid 1999 års gemensamma möte med American Society of Hematology (ASH) i New Orleans i december 1999 kunde man med glädje notera att ordet genombrott fortfarande har relevans. För visst har ordet tappat lite av sitt sting genom flitigt (miss)bruk. Nu, mot bakgrund av de framsållade allra bästa bidragen, kunde man säga att minst fem var definitiva genombrott, inte bara för hematologin utan allmänt för hela invärtesmedicinen.

Genterapi har lyckats

En fransk grupp med A Fischer från Paris i spetsen berättade att man nu har lyckats med det som vi länge väntat på: att det går att bota patienter med hjälp av genterapi. Två barn med svår kombinerad könsbunden immunbrist (SCID-X1) hade behandlats. Sjukdomen karakteriseras av en brist på mogna T-lymfocyter och NK-celler. B-lymfocyter fanns dock i minst normal mängd hos dessa barn. Felet ligger i den gen som kodar för den så kallade γ -kedjan som är en gemensam del av receptorer för flera immunologiskt viktiga cytokiner, t ex IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 och IL-15.

Tillvägagångssättet var följande: ur patienternas benmärg sorterade man fram hematopoetiska stamceller (så kallade CD34⁺-celler). Dessa celler behandlades därefter in vitro i tre omgångar med en retroviral vektor som innehåller den gen patienterna saknar. Stamcellerna matades med olika tillväxtfaktorer medan de låg på en bädd av fibronektin. De återbördades till patienterna när man visste att cellerna verkligen uttryckte den saknade genen. Den ena patientens CD34⁺-celler uttryckte då genen i 40 procent och för den andra var siffran 20 procent, vilket är mycket hög transfektionseffektivitet jämfört med vad man uppnått förut.

Författare

JAN PALMBLAD

professor, institutionen för medicin och hematologikliniken, Karolinska institutet och Huddinge universitetssjukhus.

E-post: Jan.Palmblad@hematol.hs.sll.se

Cirka 75–90 dagar efter det patienterna återfått sina genmodifierade celler började antalet blodlymfocyter öka. På dag 150 hade den ena patientens T-lymfocytantal ökat från $0,09 \times 10^9$ celler/l före behandlingen till $1,8 \times 10^9$ celler/l. För den andra patienten gick lymfocytantalet från 0 till $0,45 \times 10^9$ /l. Dessa nya lymfocyter svarade på stimulering precis som normala celler ska göra. Patienterna skrevs ut, kom hem och behövde ingen annan behandling och mår utmärkt. De svarade på vaccinering på normalt sätt med antikropstegring. Med andra ord, de verkar ha normaliserat sitt immunsystem. Den fortsatta uppföljningen får visa hur länge resultaten består.

Dessa försök visar att genterapi nu nått fram till det viktiga målet att med hög effektivitet kunna föra in en saknad gen i kroppsceller, som sedan överlever i och normaliserar patientens immunsystem.

Kronisk myeloisk leukemi

Nu finns terapi riktad mot själva grundfelet! Vid kronisk myeloisk leukemi är Philadelphia-kromosomen ett välkänt och patognomont fynd. Denna kromosomförändring beror på att bitar från kromosomerna 9 och 22 parats ihop. Den nya genen, kallad *bcr-abl*, kodar för ett enzym, ett tyrosinkinase, som ständigt är aktivt och bombarderar cellens kärna med signaler. Det är dessa signaler som leder till leukemin. *Bcr-abl* och tyrosinkinaset har länge varit i blickfånget för att konstruera ny behandling av kronisk myeloisk leukemi. Den nya medicinen, kallad STI571, hämmar kinasets aktivitet så specifikt att det inte längre kan skicka signaler vidare (med andra ord, fosforyleringen hejdas).

I en fas 1-studie gav Druker och medarbetare från Portland, Oregon, en tablett om dagen av STI571 till patienter med kronisk myeloisk leukemi i den kroniska fasen. Man hade valt patienter som inte svarade på den idag vanligaste behandlingen, α -interferon. Inga andra mediciner än STI571 gavs. Så gott som alla patienterna erhöll en komplett hematologisk remission, definierad som ett normalt antal vita blodkroppar och trombocyter. Svaren kom redan inom de

Sammanfattat

Vid decembermötet med American Society of Hematology rapporterades att

- genterapi har lyckats bota två barn med svår kombinerad immunbrist
- kronisk myeloisk leukemi kan behandlas med en ny tyrosinkinashämmare
- stamceller från muskler kan omvandlas till alla sorters blodceller
- löslig CD39 är en ny princip för antitrombotisk behandling
- transplantation med perifera blodstamceller är överlägset traditionell benmärgstransplantation vid akut leukemi.

första tre veckorna och har bestått i mer än åtta månader. Ännu bättre är att 33 procent av patienterna inte längre uppvisar genen för *bcr-abl*, dvs är i cytogenetisk remission! Dessa resultat förefaller överträffa vad man kan uppnå med dagens bästa farmakologiska behandling. Det är ännu för tidigt att säga något om risken för att sjukdomen dyker upp igen. STI571 har inte egentligen några biverkningar att tala om frånsett litet myelosuppression.

Detta visar att den mångåriga forskningen för att karakterisera Philadelphia-kromosomens rätta natur nu givit resultat. Här finns ett rationellt, effektivt och selektivt nytt läkemedel som gör precis det man vill – skjuter leukemin i sank.

Muskelceller blir till blod

Embryonala stamceller finns kvar i kroppen hela livet. Under de allra senaste åren har man lyckats karakterisera, isolera och odla dem. Man har då funnit att de kan ge upphov till i stort sett vilka celler i kroppen som helst. Hjärnceller kan bli till blodceller, blodceller kan bli till hjärnceller, blodceller kan bli till lever- och gallvägsceller. Det finns egentligen ingen begränsning för vad en stamcell kan utveckla sig till bara den får rätt miljö under odlingen. Miljö är i detta fall de lämpliga tillväxtfaktorerna.

Vid ASH-mötet rapporterade SL McKinney och medarbetare, Houston, Texas, att s k satellitceller, som är en form av embryonala stamceller och som ligger under den hinna som håller samman muskelfibrer, kan användas för att bilda blodceller. Försöken utfördes på möss. Man isolerade satellitceller, satte dem i kultur och injicerade dem sedan i möss som bestrålats så att all benmärg förstörts. För att klara mössen över den akuta pancytopena fasen fick mössen även benmärg ifrån en annan mus. Man kunde dock hålla reda på vilket djur cellerna kom ifrån med hjälp av genetiska markörer. Efter en period på 6–8 veckor hade alla bestrålade möss börjat producera röda och vita blodkroppar samt trombocyter som hade sitt ursprung ifrån muskelcellerna. Det var to m så att huvudparten av blodet härstammade från muskelcellerna. Dessa embryonala stamceller från muskler gav alltså upphov till aktiva blodbildande celler.

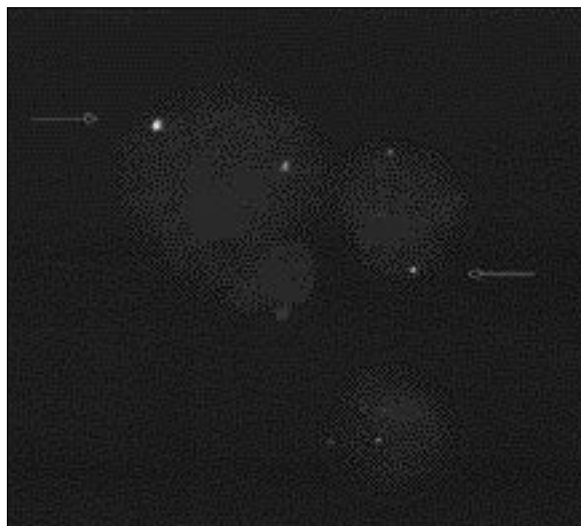
Detta, tillsammans med andra fynd rörande embryonala stamceller, öppnar fantastiska möjligheter för odling av t ex nya organ när de gamla slitits ut.

Ny princip för antitrombotisk behandling

Aaron Marcus och medarbetare från New York har under flera år arbetat med karakteriseringen av ett enzym på endotelcellernas yta. Enzymet, kallat CD39, är ett ekto-adenosindifosfatas (ADPAs). Det sitter på ytan av endotelcellerna men kan också finnas som en lösform efter klyvning av den extracellulära biten. Enzymet har ADP som substrat. Detta ADP frisätts från aktiverade trombocyter. I och med att ADP metaboliseras till inaktiva produkter kommer trombocyterna att ha förlorat en av sina viktigaste förstärkningsmekanismer för adhesion och aggregation. En stor del av effekten av diverse trombocytaktiverande stimuli går just via denna förstärkningsmekanism.

Enzymet CD39 är egentligen en förklaring till varför trombocyter inte normalt fäster vid endotelceller, dvs varför vi inte hela tiden har trombosor på gång i kroppen. Den andra förklaringen är den hämmande effekten av prostacyclin som är producerat av endotelcellerna.

Marcus och medarbetare har framställt en rekombinant lösform av humant CD39 för att pröva om det skulle kunna vara ett nytt antitrombotiskt läkemedel. Det lösliga enzymet har precis samma biologiska egenskaper som det som sitter förankrat på endotelcellsytan, bl a hämmas trombocyttaggregation in vitro. Därefter startade de djurförsök. Det viktigaste resultatet var att CD39 hämmade hjärninfarkt. Om man framkallade en hjärninfarkt på mus och tillförde CD39 minskade hjärninfarkten



Philadelfiakromosomens *bcr-abl*-gen lyser rödvit (vid pilen) medan de normala *bcr*-generna är gröna och *abl*-generna tändrar rött i denna FISH (fluorescerande in situ-hybridisering)-preparation från benmärgen från en patient med kronisk myeloisk leukemi. Det är mot det tyrosinkinaset, som kodas av *bcr-abl*-genen som den nya behandlingen riktas. Fotot är ställt till förfogande av professor G Gahrton och biomedanalytiker Monika Jansson, Huddinge sjukhus.

med 44 procent. En positiv bieffekt var att man inte såg några sekundära blödningar i hjärnan, något som fördelaktigt skiljer lösligt CD39 från dagens läkemedel.

Marcus framställde sedan djur med en utslagen (knockout)-gen för CD39. Dessa djur fick mycket större hjärninfarkter än kontrolldjuren. När forskarna tillförde rekombinant lösligt CD39 till knockout-djuren minskade infarkterna igen högst påtagligt. Lösligt CD39 var också effektivt för att förhindra infarktutbredningen även när det gavs tre timmar efter inducerad infarkt. Det har således inte bara en förebyggande effekt utan även en terapeutisk när det ges inom en tidsperiod som är högst aktuell vid behandling av patienter med stroke.

I dessa experiment som uppfyller Kochs postulat har Marcus och medarbetare visat på en helt ny princip för antitrombotisk behandling, något som förvisso behövs.

Transplantation av perifera stamceller överlägset

Den traditionella benmärgstransplantationen, där benmärg från en givare ges till en mottagare, har varit hörnstenen i hematologisk behandling av maligniteter under några decennier. Under den senaste 10-årsperioden har det betydligt enklare förfarandet med perifera blodstamceller (PBSC) kommit att ta över. Då skördar man blodstamceller (som är CD34⁺-celler) från det perifera blodet dit de mobiliserats från benmärgen med hjälp av cytokiner. Man vet att PBSC-transplantation har fördelar men kanske också vissa nackdelar. En viktig fördel är att blodproduktionen kommer igång fortare. En förmodad nackdel kan vara att transplanterat kontra värdreaktionen blir värre.

Benmärgstransplantationsgruppen i Seattle med Rainer Storb och Frederick Appelbaum har nu genomfört en randomiserad studie där patienter med akut

leukemi i första remission samt några med lymfom och andra hematologiska maligniteter randomiserades till att antingen få traditionell benmärgstransplantation eller transplantation med PBSC. Resultaten vid en interimsanalys var så entydiga att studien avbröts i förtid för att det vore oetiskt att fortsätta.

Man fann att de som transplanterats med PBSC återfick sina granulocyter och trombocyter en vecka fortare än de som fick traditionell transplantation, vilket var förväntat. Det man hade fruktat, att akut transplanterat kontra värdreaktionen skulle vara ökad vid PBSC, kunde inte bekräftas men man måste vänta lite till för att få långtidsresultaten. Det viktiga fyndet var dock att fler patienter i den traditionellt behandlade gruppen fick återfall av sin sjukdom. Den totala överlevnaden efter två år var 70 procent för PBSC och 45 procent för traditionell benmärgstransplantation. Resultaten kan förändra våra rutiner för benmärgstransplantation påtagligt.

Den allra nyaste formen av benmärgstransplantation, s k minitransplantationer, vinner terräng snabbt. Dessa bygger på principen att man inte först behöver avlägsna mottagarens egen benmärg med hjälp av cytostatika. Istället ger man en lätt immunsuppression t ex med lätt total bestrålning. De transplanterade stamcellerna stöts inte bort utan kan etablera sig i värden; immunsuppressionen gör att mottagaren accepterar de främmande cellerna. Efter hand kommer donatorcellerna att ta över och ersätta benmärgen och blodproduktionen helt. Det betyder att man också kan använda denna transplantationsmetod för patienter som inte befinner sig i remission. Även denna procedur debatterades vid ASH-mötet och intresset är stort. Framsta skälet är att minitransplantationer inte medför en lång benmärgsaplasi utan kan genomföras polikliniskt. •