

Vetenskaplig artikel – projektuppgift

Jag har läst artikeln ”*Post-Transcriptional Genetic Silencing of BCL11A to Treat Sickle Cell Disease*” publicerad i The New England Journal of Medicine (2021-01-21). Den beskriver en kohort, öppen pilotstudie där 6 patienter med sickelcellsjukdom behandlas med en ny typ av genterapi. Artikeln är skriven av Erica Esrick, Leslie Lehmann, Alessandra Bifi et al, från Dana-Farber/Boston Children's Cancer and Blood Disorders Center och Harvard Medical school. Syftet med pilotstudien var att undersöka säkerheten och genomförbarheten av genterapi som behandling för sickelcellsjukdom, genom avstängning av BCL11A-genen m.h.a en virus-vektor. (Det fanns dock ingen frågeställning formulerad.)

Artikelförfattarna gav inledningsvis en bakgrund till sickelcellsjukdom; Det är en ärftlig recessiv autosomal sjukdom (d.v.s båda föräldrarna behöver vara anlagsbärare för att barnet ska drabbas av sjukdomen). Sickelcellsjukdom orsakas av en mutation som skett i HBB-genen som kodar för transkription av β -globin vilket är en beståndsdel i hemoglobin. Hemoglobin finns i röda blodkroppar och har funktionen att transportera syre i blodet. Mutationen gör att en defekt variant av hemoglobin bildas kallat ”sickle-hemoglobin” HbS, i stället för vanligt ”adult-hemoglobin” (HbA). Bildningen av HbS leder till att hemoglobinet lätt klumpar ihop sig (”sickling”) och att de röda blodkropparna blir deformerade (blir månskäreformade). Detta medför att de röda blodkropparna får en förkortad livslängd, blir mindre elastiska och fastnar lättare i blodkärlen. Kännetecknet för sickelcellsjukdom är därför blodbrist kallat *hemolytisk anemi* (eftersom de defekta röda blodkropparna bryts ner snabbare), syrebrist i delar av kroppen samt ökad risk för blodproppar. Vanliga följsjukdomar är akut smärta p.g.a blodförträngningar, stroke eller skador i organ som hjärta, lungor, lever och njurar till följd av syrebrist. Många sickle-cellpatienter dör i förtid. (Esrick et al.,2020)

Den nuvarande standardbehandlingen för att bota sicklecellsjukdom beskrivs i artikeln som ”allogen hematopoetisk stamcellstransplantation” d.v.s benmärgstransplantation från en donator. Enligt Esrick et al. medför denna behandling risk för allvarliga komplikationer, såsom ”graft-versus-host disease” vilket innebär att de nya vita blodkropparna, som bildats av de transplanterade stamcellerna, uppfattar övriga kroppsceller som främmande och attackerar dem. Ytterligare ett problem med benmärgstransplantation är att en stor del av patienterna inte kan matchas med donatorer (med matchande HLA-antigen), och därför ej kan behandlas.

I denna studie undersöktes en behandlingsmetod där blodstamceller från patienten själv i stället genmodifieras och återförs till patienten. Mellan februari 2018 och mars 2020 gavs 6 patienter behandlingen. Patienterna följdes därefter upp under minst 6 månader (medianlängden var 18 månader). Särskilda kriterier fanns för vilka patienter som fick ingå i studien; bl.a. skulle patienterna ha en allvarlig form av sickelcellsjukdom med svåra komplikationer såsom: återkommande episoder av akuta smärta (vasoocklusiva episoder), akut bröstsyndrom och/eller historik av stroke p.g.a sjukdomen.

Behandlingsmetoden som testades i studien går ut på att stimulera kroppen till transkription av så kallat *fetalt hemoglobin* (HbF) som i vanliga fall enbart bildas hos foster och små barn men slutar bildas hos vuxna. Tidigare forskning har visat att närvaro av HbF motverkar ihopklumpning av hemoglobinet, enligt Esrick et al. Genterapibehandlingen i studien utnyttjar en ”*lentivirusvektor*”, d.v.s en icke-sjukdomsframkallande del av ett så kallat lentivirus som fungerar som ”bärare/transportör”. Hematopoetiska stamceller togs först från benmärgen hos

patienter med sickelcellanemi och därefter infekterades cellerna med "lenti-virusvektorer" i ett labb. Virusvektorn bär på ett kort RNA-segment kallat "short-hairpin RNA" (shRNA) som på så sätt transporterades in i cellerna (in vitro=utanför kroppen).

Väl inne i cellerna inhiberar/avaktiverar shRNA en transkriptionsfaktor kallad BCL11A, vilken hämmar produktion av fetalt hemoglobin i kroppen hos vuxna personer. När BCL11A "blockeras", stimuleras därför stamcellerna till att åter börja bilda fetalt hemoglobin. De modifierade blodstamcellerna återfördes därefter till patienterna (intravenöst). Innan de kunde återföras behövde patienten dock behandlas med kemoterapi för att slå ut cellerna med sickle-hemoglobin (HbS), för att lämna plats till celler med HbF.

Efter behandlingen utvärderades patienterna regelbundet, bl.a. genom blodprov där förekomst av olika hemoglobinmolekyler analyserades. Koncentrationen HbF i blodet analyserades genom *högupplösande vätskekromatografi* (en separationsmetod) och andelen F-celler (d.v.s röda blodceller med fetalt hemoglobin) mättes genom *flödescytometri*. Detta jämfördes med blodprov som tagits innan behandlingen. Vid varje patientbesök samlades också hälsodata in om patienten (som biverkningar/sickelcellrelaterade komplikationer).

Efter behandlingen konstaterade forskarna att koncentrationen fetalt-hemoglobin (HbF) hos samtliga patienter hade ökat i de röda blodcellerna samtidigt som halten av sickle-hemoglobin (HbS) hade minskat. Halten HbF förblev stabil under uppföljningstiden hos samtliga patienter och medianen för andelen HbF hos patienterna var vid den senaste uppföljningen 30,5%. Dessutom var en större andel av blodcellerna F-celler efter behandlingen (median 70,8%) jämfört med innan (då medianen var 14% F-celler).

Behandlingen resulterade även i att blodcellernas livslängd förlängdes och färre tecken på hemolys observerades än innan (bl.a. genom minskade halter av enzymet LDH i blodet, som frigörs då erythrocyter bryts ner). Vidare beskriver Esrick et al. att sickelcellsrelaterade komplikationer minskade i omfattning hos patienterna efter behandlingen: Ingen av patienterna drabbades av akut smärta (vasoocklusiva episoder), stroke, eller akut bröstsyndrom under uppföljningstiden.

I *diskussionen* skriver artikelförfattarna att den generation av lentivirus-vektorer som använts vid studien hittills inte associerats med några fall av leukemi, till skillnad från en annan klinisk studie där en av patienterna som behandlats med genterapi med retrovirus-vektorer nyligen rapporterats ha drabbats av leukemi. Esrick et al. understryker att mer forskning och uppföljning krävs i denna och liknande studier för att utreda eventuella risker och långsiktiga konsekvenser av behandlingsmetoden.

Avslutningsvis skriver artikelförfattarna att dessa tidiga resultat från pilotstudien bekräftar att bildning av fetalt hemoglobin kan stimuleras i människor genom inhibering av transkriptionsfaktorn BCL11A m.h.a genterapi. Halten HbF och andelen F-celler som uppmättes hos patienterna efter behandlingen och under uppföljningen menar forskarna indikerar att patienterna kommer ha ett fortsatt skydd mot sickling (d.v.s att blodkropparna klumpar ihop sig) med minskade akuta och kroniska komplikationer som följd. Kunskapen om att lentivirusvektorer som försätts med "short hairpin RNA" kan användas för att styra hur gener uttrycks, menar Esrick et al. också kan få betydelse vid behandling av andra genetiska sjukdomar.

Det var intressant att ta del av denna studie. Den var välskriven med systematisk och tydlig beskrivning av metod och resultat. Artikeln publicerades i "New England Journal of Medicine" som är en välrenommerad medicinsk tidskrift och har genomgått peer-review. Studien var dock mycket småskalig (med enbart 6 studiedeltagare) och det krävs därför flera mer omfattande kliniska tester för att studien ska bli fulländad, innan behandlingen kan användas i praktiken. Pilotstudien är alltså som en "provstudie" som görs innan den större fulländade studien, i syfte att kontrollera genomförbarheten av upplägget.

Studien var kohort, icke-randomiserad och öppen (utan blindtest). Ett sätt att öka studiens tillförlitlighet skulle kunna vara att använda dubbel-blindmetod, för undvika att "placebo-effekt" påverkar resultatet t.ex. när det gäller patienternas sickle-cellrelaterade komplikationer efter behandlingen. Som Esrick et al nämner krävs också längre uppföljningar för att studera långsiktiga konsekvenser av behandlingen samt undersöka om HbF-halterna förblir stabila även efter längre tid.