



Genetisk nanomedicin til behandling af leddegigt

Foged, Camilla; Jensen, Linda Boye; Nielsen, Hanne Mørck

Published in:
Lægemiddelforskning

Publication date:
2011

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Foged, C., Jensen, L. B., & Nielsen, H. M. (2011). Genetisk nanomedicin til behandling af leddegigt. *Lægemiddelforskning*, 7-9.

Genetisk nanomedicin til behandling af leddegigt



Der er mange fordele ved at benytte genetisk medicin til sygdomsbehandling, men det er svært at smugle makromolekyler som DNA og RNA forbi kroppens forsvarsbarrierer. En ny mulighed er at pakke det genetiske materiale ind i nanopartikler, som beskytter lægemiddelstoffet mod nedbrydning og transporterer det hen til virkningsstedet. Forsøg med at behandle mus med leddegigt med genetisk nanomedicin viser positive resultater.

Af Camilla Foged, Linda Boye Jensen og Hanne Mørck Nielsen

Leddegigt er en smertefuld autoimmun sygdom, hvor en kronisk betændelsestilstand i kroppens led fører til ødelæggelse af brusk og knogler. På verdensplan får et ud af hundrede voksne mennesker leddegigt, som typisk bryder ud i alderen mellem 40 og 60 år. Omkring 35.000 danskere lider af sygdommen, og tre fjerdedele af de ramte er kvinder. Årsagen til leddegigt er ikke fastslået, men sygdommen kan skyldes forskellige genetiske faktorer, som får immunforsvaret til at angribe kroppens eget væv. Leddegigt behandles i dag ved at forsøge at kontrollere symptomerne så godt som muligt for at forebygge yderligere skader på leddene. Metoderne spænder fra smertestillende og antiinflammatoriske lægemidler til kirurgiske indgreb.

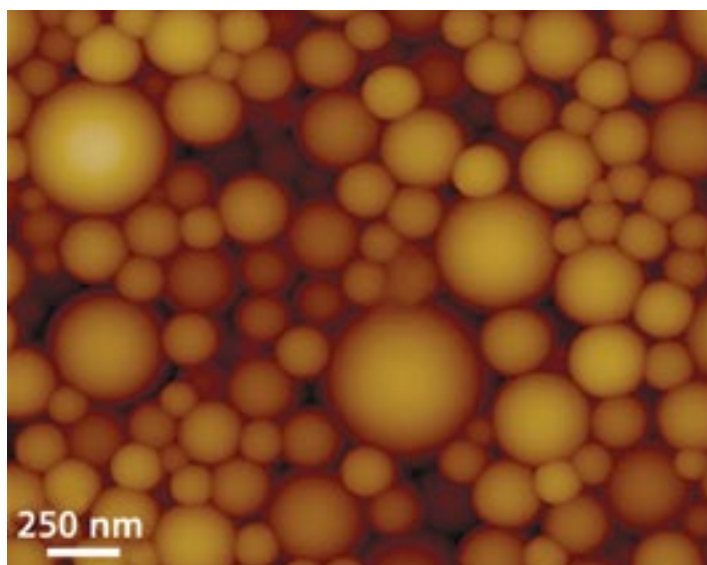
Genetisk nanomedicin åbner nye muligheder for at gribe direkte ind i sygdomsprocessen. Målet er at bruge skræddersyede gensekvenser til at nedregulere dannelsen af inflammatoriske proteiner i leddene. På den måde kan man reducere betændelsestilstanden, så smerterne lindres, og ødelæggelse af knoglerne standses. I praksis er det dog svært at transportere DNA eller RNA ind i de celler, hvor de genetiske instrukser skal aktiveres for at bremse sygdommens fremadskriden. En lovende løsning er at pakke den genetiske medicin ind i nanopartikler, som består af en uskadelig og bionedbrydelig polymer, der frigiver lægemiddelstoffet på virkningsstedet. For nylig har vi – i samarbejde med en hollandsk forskningsgruppe – testet sådanne nanopartikler på mus. Inden forsøgene fik musene induceret leddegigt via indsprøjtning af en antistof-cocktail rettet mod bindevævsproteinet kollagen, som findes i sener og led. Ved hjælp af en billeddan-

MRI-SCANNING: DETALJEREDE 3-D BILLEDER AF KROPPENS VÆV

Magnetisk resonans imaging (MRI) er en noninvasiv metode, der bruges til at fremstille billeder af alle typer væv i kroppens indre.

Ved undersøgelsen placeres patienten, eller i dette tilfælde forsøgsdyret, i en MRI-scanner, som frembringer et stærkt magnetfelt, der ensretter magnetiske atomkerner i kroppen. Derpå påsættes et radiofrekvensfelt, som systematisk ændrer ensretningen for udvalgte atomkerner. Herved sættes atomkernerne i svingninger, og det skaber et roterende magnetfelt omkring dem, som scanneren detekterer og bruger til at danne et billede. Styrken af det magnetiske felt har stærke gradienter, hvilket får atomkernerne til at rotere med forskellige hastigheder forskellige steder i kroppen. Dette udnyttes til at opbygge tredimensionelle billeder.

MRI har mange fordele. Teknikken giver en høj opløsning og en god kontrast mellem forskellige væv. Scanningen menes ikke at have skadelige effekter og kan anvendes uden brug af kontrastvæske. I modsætning til fx CT-scanning og PET-scanning udsættes patienten eller forsøgsdyret ikke for ioniserende stråling.



Disse nanopartikler indeholder genetisk gigtmedicin. Partiklerne er fremstillet af en uskadelig og bionedbrydelig polymer, som fremmer transporten ind i de celler i sener og led, hvor medicinen skal virke.

nende metode, magnetisk resonans imaging, undersøgte vi derpå de levende mus og påviste en gavnlige effekt på deres gigtramte led efter indsprøjtning af genetisk nanomedicin i leddene.

Forbi kroppens grænsekontrol

Genetisk medicin er baseret på DNA eller RNA. Når en kunstig gensekvens kommer ind i cellerne, indgår den i cellens normale maskineri, og alt efter strategien bliver gensekvensen brugt til at danne nye proteiner, som kan gøre cellen rask, eller til at hæmme dannelsen af de af cellens proteiner, som forårsager eller forværrer sygdommen. Medicinen består således af kroppens egne genetiske byggesten, som man ved hjælp af nanopartikler kan målrette til at gå efter bestemte celler i kroppen. På den måde bliver det muligt at udvikle meget specifikke lægemidler, der virker i meget lav koncentration og med færre bivirkninger end almindelige lægemidler.

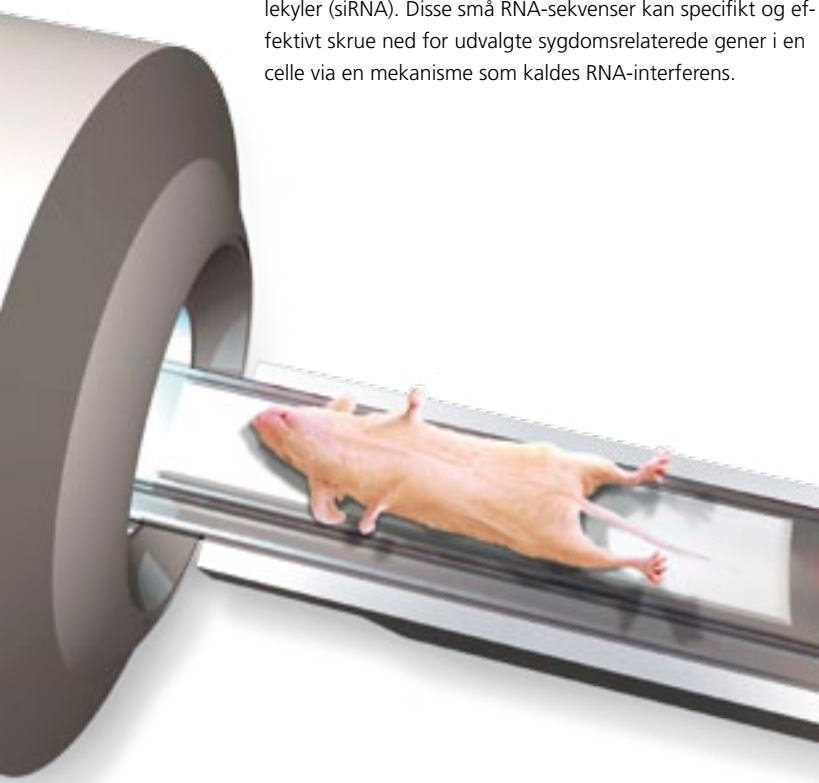
Udfordringen er imidlertid, at det genetiske materiale skal ind i cellerne for at virke. Det er vanskeligt, fordi DNA og RNA er store negativt ladede molekyler, som i fri form hurtigt bliver elimineret af kroppens forsvarsmekanismer. Desuden kan DNA og RNA ikke selv passere gennem cellemembraner på grund af molekylernes størrelse og ladning. Derfor bruger vi nanopartikler til at transportere en bestemt type genetisk materiale ind i cellerne, nemlig små interfererende RNA-molekyler (siRNA). Disse små RNA-sekvenser kan specifikt og effektivt skruer ned for udvalgte sygdomsrelaterede gener i en celle via en mekanisme som kaldes RNA-interferens.

Bionedbrydelige nanopartikler

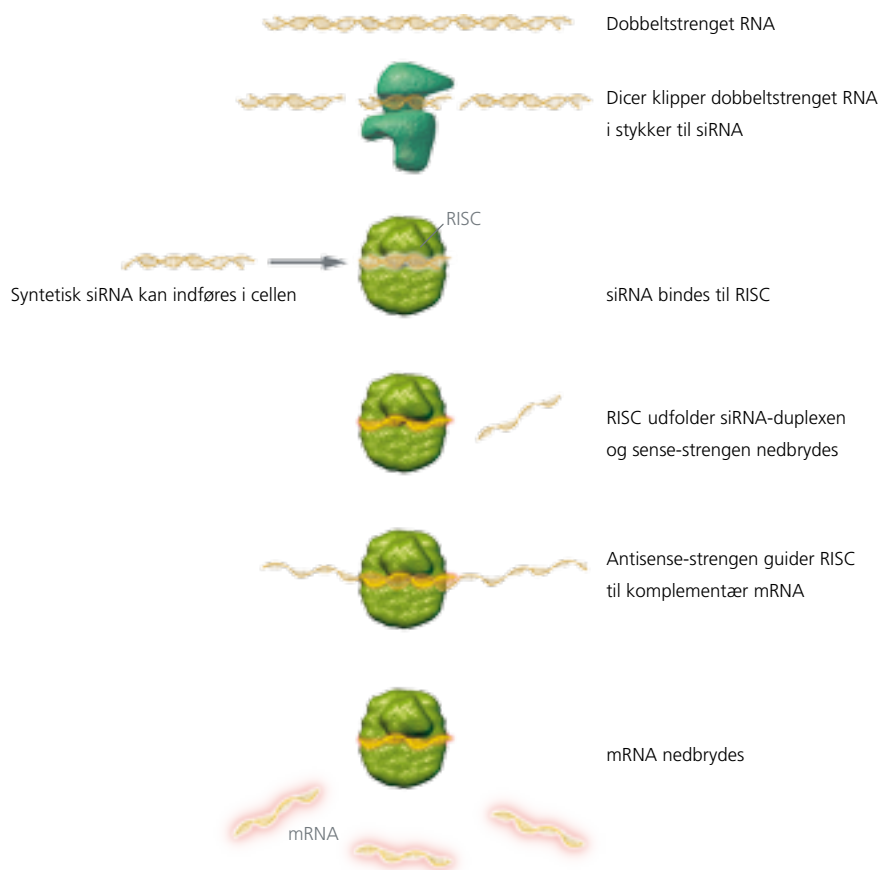
Nanopartiklerne er baseret på polymeren polylactic-co-glycolic acid (PLGA), som er bionedbrydelig og biokompatibel. I kroppen nedbrydes polymeren ved hydrolyse til naturligt forekommende stoffer, der nemt udskilles igen. Polymeren bruges i dag til implantater og til kontrolleret afgift af lægemiddelstoffer, og den er godkendt af den amerikanske lægemiddelstyrelse FDA.

Ved at indkapsle siRNA i nanopartikler kan man beskytte den genetiske medicin mod nedbrydning under transporten gennem kroppen. Desuden har vi modificeret nanopartiklerne med et positivt ladet fedtstof, som giver partiklerne en positiv ladning, så de både kan binde de negativt ladede siRNA molekyler og skabe kontakt til celleoverfladen, som også er negativt ladet. Denne egenskab fremmer optagelsen over cellemembranen og ind i cellerne. Endelig kan man ved at justere kompositionen af polymeren kontrollere afgiften af siRNA fra nanopartiklerne og dermed forlænge virkningen af lægemiddelstoffet inde i cellerne.

Studier med cellekulturer har vist, at nanopartiklerne er rigtig gode transportører af siRNA rettet mod det inflammatoriske protein tumor necrosis factor- α (TNF- α). Proteinets produktion af makrofager, når immunforsvaret aktiveres, og det styrer dannelsen af yderligere inflammatoriske signalstoffer i cellerne. Når produktionen af proteinet blokeres med siRNA, dæmpes den inflammatoriske proces. Vore forsøg med mus bekræfter dette og giver håb om, at det vil blive muligt at udvikle et nyt lægemiddel til gigtramte mennesker baseret på genetisk nanomedicin, som hæmmer dannelsen af proteinet.



En levende mus undersøges i MRI-skanneren (venstre). MRI-billedet viser et gigtramt knæled fra bagbenet på en mus. Ved skanning fremkommer vand som lyse områder. Hos mus med inflammation ses der en større væskeindtrængning i leddet i forhold til raske eller behandlede mus, hvilket tyder på en mere betændt tilstand. Ved et længerevarende sygdomsforløb vil knoglenedbrydning også være synlig på billedet som en utydelig afgrænsning af knoglen.



SMÅ RNA-MOLEKYLER SKRUER NED FOR SYGDOMSGENER

Menneskers og dyrs genomer er opbygget af DNA. Den menneskelige arvemaske rummer mellem 20.000 og 25.000 gener, som hver især indeholder opskriften på et af de proteiner, som dannes i kroppen.

Når et gen aktiveres, fremstilles en enkeltstrengt kopi af genet, som kaldes messenger-RNA (mRNA), og som transporterer opskriften på et specifikt protein ud fra cellekernen og hen til cellens proteinfabrikker, ribosomerne, som befinder sig i cytoplasmaet. Ribosomet aflæser opskriften og producerer proteinet.

Kroppens værn mod virus

RNA-interferens er et naturligt forsvarssystem mod fremmed genetisk materiale, fx virus, som formerer sig ved at udnytte cellens genetiske produktionsapparat til at danne sine egne virale proteiner. Det sker ved, at virus får sine gener aflæst i proteinfabrikkerne. Forsvarssystemet slår til, når det opdager dobbeltstrengt RNA i cellevæsken. Dobbeltstrengt RNA kan nemlig være et tegn på, at en virus er ved at inficere cellen.

Et enzym ved navn dicer nedbryder nu det dobbeltstrengede RNA til små dobbeltstrengede siRNA-molekyler, som indbygges i et

proteinkompleks kaldet RNA-induced silencing complex (RISC). Komplekset katalyserer derpå en opsnoning til enkeltstrengt RNA, som efterfølgende guider proteinkomplekset hen til mRNA med en komplementær sekvens – dvs. det virale mRNA, som RISC-komplekset så nedbryder, og derved slukkes der for dannelsen af virale proteiner.

siRNA blokerer dannelsen af inflammatoriske proteiner

Mekanismen kan udnyttes terapeutisk ved at tilføre cellerne kunstigt fremstillet siRNA, som kan hæmme dannelsen af hvilket som helst protein i kroppen – fx et eller flere af de inflammatoriske proteiner, som er involveret i sygdomsprocessen ved leddegigt. Her guider de kunstige siRNA-molekyler RISC-komplekset hen til mRNA, som koder for de inflammatoriske proteiner, hvorefter komplekset nedbryder mRNA, og derved slukkes for udtrykkelse af genet.

I det seneste årti har der været en stor interesse for udvikling af lægemidler baseret på kunstigt fremstillet siRNA, og i 2006 fik Andrew Z. Fire og Craig C. Mello Nobelprisen i Medicin for opdagelsen af mekanismen bag RNA interferens.

Ph.d. Camilla Foged er lektor på Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.

Ph.d. Linda Boye Jensen er R&D Scientist på LEO Pharma A/S.

Ph.d. Hanne Mørck Nielsen er lektor på Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.

