

## EU-Forschungsprojekt GAMBA: Wissenschaftliche Projektergebnisse

### Information für die Teilnehmenden der GAMBA-Laienforen

**Arthrose** ist eine schmerzhafte degenerative Gelenkserkrankung, die mit dem Abbau von Knorpel und dem darunterliegenden Knochen sowie mit Entzündungen einhergeht. Ursachen sind weitgehend unbekannt. Bisher kann Arthrose nur durch schmerzstillende und entzündungshemmende Medikamente behandelt werden in Kombination mit Lebensstilveränderungen (etwa Gewichtsreduktion, gesunde Ernährung, sanfter Sport); am Ende steht oft der Gelenkersatz.

Das **Hauptziel von GAMBA** war die Entwicklung eines Implantat-Systems mit Stammzellen, Genvektoren, Nanopartikeln und Biomaterialien wie Hyalurongel (Hyaluronsäure ist der Hauptbestandteil der Gelenkflüssigkeit) oder Kalziumphosphat-Kügelchen (K. ist der Hauptbestandteil der Knochen). Dieses System sollte die Entzündung kontrollieren und Knorpel- sowie Knochenwachstum im kranken Gewebe mit Hilfe therapeutischer Gene anstoßen.

Die folgenden **Arbeitspakete (AP)** waren Teil von GAMBA:

**Genvektoren (Genvehikel) (AP1):** Der erste Satz Genvehikel funktionierte nicht befriedigend in mesenchymalen Stammzellen (aus dem Knochenmark von Erwachsenen), obwohl die Genvehikel in anderen Zelltypen funktionierten. Daraufhin versuchten die Forschenden, die Produktivität der Vehikel zu erhöhen durch die Gabe des Arzneistoffes Doxycyclin als Genschalter. Dieser soll die Produktion des entzündungshemmenden Proteins und des Knochenproteins in den Zellen ankurbeln. Die Arbeit dauert gegenwärtig noch an.

Die zeitliche Kontrolle der Wachstumsfaktoren, die als heilende Proteine wirken, war erfolgreich: die Produktion der Proteine startete erst nach der Gabe des Genschalters Doxycyclin.

**Hyalurongel (AP2):** Das Gel wurde verbessert und mit den Kalziumphosphat-Kügelchen sowie den Nanopartikeln kombiniert, damit diese Komposition in Zellkulturen getestet werden konnte. Die magnetischen Nanopartikel beeinflussten das Gel nicht negativ. In einem Wechselstromfeld bei 43 Grad Celsius bildete sich das Gel wie geplant aus, was für den Beginn der Arbeit der Genvehikel nötig ist. Die Zellen produzierten die therapeutischen Proteine innerhalb des Gels mit der Hilfe von viralen Genvehikeln (aus unschädlich gemachten „Erkältungsviren“). Dies funktionierte auch mit Hilfe der nicht-viralen Genvehikel, aber weniger effizient. Das Gel ist zudem in Tier-Experimenten gut biologisch verträglich („biokompatibel“).

**Kalziumphosphat-Kügelchen (AP3):** Die Keramik-Kügelchen wurden als Träger für die Genvehikel getestet und weiter verbessert; End-Ziel ist eine Arzneimittelzubereitung. Um später den Zulassungsprozess zu ermöglichen und zu vereinfachen, ist es besser, einzelne Bestandteile einer Arzneimittelzubereitung (in diesem Fall: Kügelchen und Genvehikel) zu haben; der behandelnde Arzt würde dann später die Bestandteile erst kurz vor der Injektion in das Gelenk zusammenfügen.

Im Arbeitspaket 3 wurde außerdem ein biologisches Gerüst entwickelt, das natürliche Strukturen nachahmt. Dieses besteht aus Fasern (die Kollagen ähneln, den weißen Fasern von Gewebe wie Knochen) und Kügelchen (die den Knochenkristallen ähneln).

**Bekämpfung der Entzündung im Gelenk (AP4):** Forschende vermuten, dass Veränderungen im Synovium (Gelenk-Membran) zur Entwicklung der Arthrose führen. Einerseits tragen die Stammzellen im Synovium dazu bei, beschädigtes Gewebe wie Knorpel oder Knochen zu reparieren; dies wird jedoch durch die Entzündung gehemmt. Das Protein Interleukin 10 (IL-10) kann entzündungshemmend sein, aber es kann auch negative Immuneffekte anstoßen und damit die Entzündung fördern. Im Gegensatz zum menscheigenen IL10 besitzt die von einem Virus abgeleitete Form des IL10 nur die entzündungshemmenden Eigenschaften. Daher wurde diese Form benutzt, um sie von Stammzellen produzieren zu lassen. Zudem hatte dieses IL-10 einen positiven Einfluss auf die Entwicklung von Knorpelzellen aus mesenchymalen Stammzellen.

In der Gelenk-Membran von Spendern, die ein neues Kniegelenk erhalten hatten, waren im Labor unterschiedliche Wirkungen der Genevehikel zu beobachten: einige Proben reagierten gut und produzierten das entzündungshemmende Protein; andere reagierten weniger gut. Je mehr Fresszellen des Immunsystems (Teil der „Körperpolizei“, die schädliche Stoffe bekämpft) anwesend waren, desto geringer war der positive Effekt, so dass die Forschenden nun versuchen, die Fresszellen zu hemmen.

Einige positive Wirkungen von viralem IL-10 auf der Ebene von Immunzellen konnten im Tierversuch gezeigt werden; diese waren jedoch nicht groß genug, um die Entzündung zu hemmen.

Wie oben erwähnt, funktionierte einer der getesteten Gen-Schalter (tet-on), der die Produktion von viralem IL-10 starten soll, sehr gut in den Stammzellen; ein anderer, der durch die Entzündung ausgelöst werden sollte, arbeitete nicht gut. Allerdings funktionierte letzterer gut in Knorpelzellen.

**Knorpelregeneration (AP5):** Die GAMBA-Forschenden waren in der Lage, ein neues Modell zu entwickeln, das die Situation im Gelenk besser darstellt als die bisherigen Labormodelle. In diesem neuen Modell wird TGFbeta, das Knorpel-Protein, ursprünglich notwendig für die Knorpelbildung, nicht mehr gebraucht; stattdessen wird in ein Knochenstück (von Kuhhufen), auf dem sich noch Knorpel befindet, ein Loch gebohrt und mit Stammzellen gefüllt. Proteine, die vom Knochen produziert werden, regen die Stammzellen an, sich zu Knorpelzellen umzubilden. Der Effekt konnte allerdings nur mit dem richtigen Biomaterial erzielt werden: das Hyalurongel (siehe AP2) funktionierte gut; eine andere getestete Substanz, das Fibrin (Klebstoff bei der Blutgerinnung), funktionierte nicht ohne Zugabe von TGFbeta. Vorteil des Hyalurongels ist auch, dass der Knorpel nicht verknöchert (was den Knorpel versteifen würde). Gentherapie wurde hier nicht angewendet, weil einerseits der nichtvirale Gentransfer nicht gut genug funktionierte, andererseits das neue Test-Modell kein TGFbeta mehr für das Knorpelwachstum braucht, vermutlich weil das umgebende Gewebe von selbst genügend Wachstumsfaktoren (Proteine) produziert, um das Knorpelwachstum zu stimulieren.

**Knochenwachstum (AP6):** Die Forschenden testeten menschliche Stammzellen (ohne Genevehikel), die auf die Kalziumphosphat-Kügelchen aus Arbeitspaket 3 aufgebracht worden waren, in Mäusen. Schon nach vier Wochen waren viele Knochenzellen zu sehen, und nach acht Wochen waren die Kügelchen komplett mit festem Knochen besiedelt. In einem Experiment mit Kaninchen (36 Tiere) zeigte sich ebenfalls genügend Knochenbildung mit den gleichen Kügelchen. Die zusätzliche Anwe-

senheit von nichtviralen Genvehikeln (Plasmide) erbrachte etwas bessere Ergebnisse, jedoch kein statistisch signifikant höheres Knochenwachstum.

**Großtierversuch (AP7):** Ursprünglich war geplant, positive Ergebnisse aus anderen Arbeitspaketen in einem Großtierversuch mit Ziegen zu testen. Da jedoch die geplanten therapeutischen Lösungen nicht weitgehend genug in vorangegangenen Kleintier-Experimenten bewiesen werden konnten, verzichtete das Konsortium aus wissenschaftlichen und ethischen Gründen auf dieses Experiment.

### Zusammenfassung

Insgesamt waren die GAMBA-Forschenden in der Lage, einige Komponenten, die zur Heilung von Arthrose geeignet sind, im Labor und in Tierexperimenten zu testen und weiterzuentwickeln. Allerdings konnte nicht das ganze System getestet werden, wie es die Ursprungsvision von GAMBA gewesen war. Wegen der Gesetzeslage ist es ohnehin unwahrscheinlich, dass ein multi-Komponenten-System genehmigt würde; aus Gründen der Komplexität und daher höherer Risiken sind Einzelbestandteile einfacher zu genehmigen.

**Nichtvirale Genvehikel** funktionierten nicht gut genug, um die Stammzellen anzuregen, die heilenden Proteine herzustellen. Wegen hoher Sicherheitsauflagen konnten Adenoviren (Erkältungsviren) nicht von allen Partnern getestet werden. Die Forschenden konzentrieren sich nun darauf, die Produktivität der Vektoren zu erhöhen.

Die besten Ergebnisse wurden beim **Knochenwachstum** mit Keramik-Kügelchen und Stammzellen erzielt; eine zusätzliche Gentherapie zeigte nur wenig bessere Ergebnisse. Allerdings konnte gezeigt werden, dass die **zeitliche Kontrolle** der Produktion von heilenden Proteinen durch Genvehikel gut funktioniert. Das **Hyalurongel** aus AP2 zeigte gute Ergebnisse, was die Bioverträglichkeit angeht, und es konnte auch erfolgreich mit den Stammzellen kombiniert werden.

In einem geringeren Ausmaß konnte auch die **Entzündung reduziert** werden durch das therapeutische Protein IL-10, das von viralen Genvehikeln in den Stammzellen produziert worden war. Zudem konnte gezeigt werden, dass IL-10 die Stammzellen dazu anregt, sich zu Knorpelzellen zu entwickeln.

**Knorpel** wurde am besten produziert, indem eine Mischung aus dem Hyalurongel und Stammzellen in den Knochendefekt eingebracht wurde (hier ohne Gentherapie).

GAMBA als Konsortium wird nicht in der gegenwärtigen Konstellation fortgeführt; alle Partner werden ihre individuelle Forschung aber selbstverständlich fortsetzen, entweder allein oder in kleineren Partnerschaften (zu zweit oder zu dritt), um die Heilung von Arthrose weiter zu erforschen.

➔ Weitergehende Ergebnisse sind auf der GAMBA-Projekt-Homepage (in englisch) veröffentlicht: <http://gamba-project.eu>

