

Ribozymer - mot virussykdommer og kreft

REDAKSJONELT

THRANE PS

LYNGSTADAAS SP

De siste 10-20 årene har man i økende grad vært opptatt av arvematerialets oppbygning og de muligheter dette gir for biomedisinsk forskning og terapi. Arvematerialet er bygd opp som en ca. 1 meter lang dobbelttrådet DNA-spiral der fire forskjellige baser parer seg to og to etter et fastlagt mønster. Sammen med oppdagelsen av enzymer som kan "klippe og lime" DNA og RNA, er dette selve grunnlaget for moderne genterapi. Det pågående humane genomprosjekt (HUGO), der alle genene i det humane genom (ca. 70000) skal kartlegges, vil gi et strukturelt grunnlag for målrettet terapi mot defekte eller fremmede gener (såkalte tripleks- og antisensestrategier) og/eller mRNA-kopier av disse (1). Spesielt har blokkering av genekspresjon på mRNA-nivå ved hjelp av ribozymer fremstått som et interessant prinsipp, siden man ved denne metoden unngår direkte kontakt med genomet. Man arbeider med andre ord med kopien (mRNA) og lar originalen (selve genet) være i fred (1).

Ribozymer kan brukes til mer enn å klippe RNA

Ribozymer er korte RNA-molekyler som på enzymliknende vis katalyserer reaksjoner med andre RNA-molekyler. I tillegg til å binde og blokkere RNA-translasjon (som ved såkalt antisensestrategi, 2, 3), vil ribozymer også klippe i RNA-molekyler. Klippingen foretas av en kjernestruktur som i nærvær av en bivalent kation (vanligvis Mg^{2+}) har katalytiske egenskaper, forutsatt at molekylets tredimensjonale struktur er bevart. Ved å utstyre disse RNA-klipperne med armer som kan binde et ønsket mål-RNA, f.eks. fra et mutert gen eller et virus, kan ribozymene bli et svært presist våpen mot uønsket genekspresjon.

Man kan konstruere ribozymer mot nesten ethvert tenkelig RNA-molekyl. Det er også funnet og utviklet ribozymer som i tillegg til å spalte også kan lime sammen RNA (4), spalte DNA og trolig også noen proteiner (5). Dette peker i retning av et utvidet anvendelsesområde for ribozymer både i forskning og terapi.

Ribozymer virker in vivo

Det er ønskelig å øke ribozymets stabilitet i vevet, dets evne til å penetrere cellemembraner og dets affinitet for RNA fremfor DNA og for proteiner. Dette kan oppnås ved kjemiske modifikasjoner av molekylet (1). Med unntak av noen nukleotider i det katalytiske motivet av molekylet har man faktisk klart å fremstille hele ribozymet ved hjelp av syntetiske, kjemisk modifiserte baser. En norsk gruppe har nylig vist at et slikt syntetisk ribozym kan

virke effektivt in vivo (6).

Ribozymer er et nyttig supplement til transgene dyremodeller

Ribozymer som primært rettes mot genkopien (mRNA), og derfor ikke berører selve genomet (DNA), er et svært nyttig supplement til transgene dyremodeller. Ved ribozymmetodikken kan i prinsippet genkopien slås ut (eller påvirkes på annen måte) når og hvor man måtte ønske det, og over et begrenset tidsrom slik at genet på et senere tidspunkt kan gjenoppta sin normale funksjon. Disse forhold/muligheter representerer derfor en helt ny dimensjon i biologiske studier og er spesielt velegnet i studier av trinnvise prosesser som organ- og kreftutvikling (7).

Ikke-modifiserte ribozymer kan bruke kroppens egne celler som produksjonsenhet

Ikke-modifiserte ribozymer kan introduseres til celler via genbærere (vektorer) som f.eks. virus. Slike vektorer kan være celledoesifikke slik at effekten kan siktes inn mot cellekloner eller spesielle vev. Virus-DNA i infiserte celler vil på denne måten kunne fungere som "ribozymfabrikker". Ulempen er at virusarvestoffet forblir i cellen med de uheldige følger dette kan få for cellens funksjon og organismen som helhet.

Modifiserte ribozymer har flere fortrinn, selv om de må tilføres utenfra

Kjemisk modifiserte ribozymer har trolig et større potensial som terapeutikum enn de tradisjonelle RNA-ribozymer og antisensemolekyler fordi de er mer stabile og spesifikke, og ikke fordrer tilførsel av nytt arvestoff til cellene. Slike modifiserte ribozymer må imidlertid tilføres utenfra da de ikke kan syntetiseres i kroppens egne celler. Avhengig av behov og formål kan ribozymene tilføres ved lokale injeksjoner (ved f.eks. lokalisert kreft), påsmøres lokalt (ved f.eks. lokalisert hudkreft), eller gis systemisk som infusjoner eller tabletter (ved f.eks. disseminert kreftsykdom eller virusinfeksjoner). Det arbeides intenst med å utvikle leveringssystemer som kan sikre kontinuerlig tilførsel av ribozymer i vevet. Man har blant annet forsøkt å pakke ribozymer inn i liposomer eller agarosekuler (1).

Ribozymene - gammelt og velprøvd prinsipp med ny anvendelse

For ca. 3,5-4 milliarder år siden fungerte ribozymer både som lagringsenhet for genetisk informasjon og katalysator for enklere kjemiske reaksjoner. Dagens terapeutiske potensial ligger nettopp i denne dobbeltfunksjonen, og man har allerede lyktes i å gjøre celler virusresistente ved hjelp av ribozymer, et prinsipp som er blitt kalt "intracellulær immunisering" (8). De første humane ribozymstudier rettet mot HIV-viruset er allerede initiert (9) og metodens potensial er stort også i kreftbehandling.

Erfaringsmessig vil det dukke opp mange "skjær i sjøen", spesielt når helt nye behandlingsmetoder tas i bruk, men ribozymet er et så gammelt og velprøvd prinsipp at det må være lov å være betinget optimist. I tillegg har ribozymene allerede vist seg som et meget nyttig forskningsredskap som vil kunne få anvendelse på nær sagt alle områder av biomedisinsk forskning. Det er derfor med stor spenning vi følger den videre utvikling på dette fagområdet.

Per Stanley Thrane

Ståle Petter Lyngstadaas

LITTERATUR:

1. Thompson JD, Macejak D, Couture L, Stinchcomb DT. Ribozymes in gene therapy. *Nature Medicine* 1995; 1: 277-8.
2. Gura T. Antisense has growing pains. *Science* 1995; 270: 575-7.

3. Wagner RW. Gene inhibition using antisense oligodeoxynucleotides. *Nature* 1994; 372: 333-5.
 4. Sullenger BA, Cech TR. Ribozyme-mediated repair of defective mRNA by targeted trans-splicing. *Nature* 1994; 371:619-22.
 5. Dai X, Mesmaeker AD, Joyce GF. Cleavage of an amide bond by a ribozyme. *Science* 1995; 267: 237-40.
 6. Lyngstadaas SP, Risnes S, Sproat BS, Thrane PS, Prydz HP. A synthetic, chemically modified ribozyme eliminates amelogenin, the major translation product in developing mouse enamel in vivo. *EMBO J* 1995; 14: 5224-9.
 7. Kashani-Sabet M, Funato T, Tone T, Jiao L, Wang W, Yoshida E et al. Reversal of the malignant phenotype by an anti-ras ribozyme. *Antisense Res Dev* 1992; 2: 3-15.
 8. Baltimore D. Intracellular immunization. *Nature* 1988; 325: 395-6.
 9. Yu M, Poeschla E, Wong-Staal F. Progress towards gene therapy for HIV infection. *Gene Therapy* 1994; 1: 13-26.
-

Publisert: 17. oktober 2018. Tidsskr Nor Legeforen. DOI:

© Tidsskrift for Den norske legeforening 2020. Lastet ned fra tidsskriftet.no