



Lara Pasovic

# Regenerativ behandling av netthinnesykdommer

Aldersrelatert makuladegenerasjon (AMD), retinitis pigmentosa og Stargardts sykdom er blant tilstandene som nå blir forsøkt behandlet med transplantasjon av retinale pigmentepitelceller (RPE). Kliniske studier er satt i verk i USA, England og Japan. Her i Norge jobber vi med å utvikle lagrings- og transportteknologi som i fremtiden vil kunne gjøre behandlingen tilgjengelig verden over.

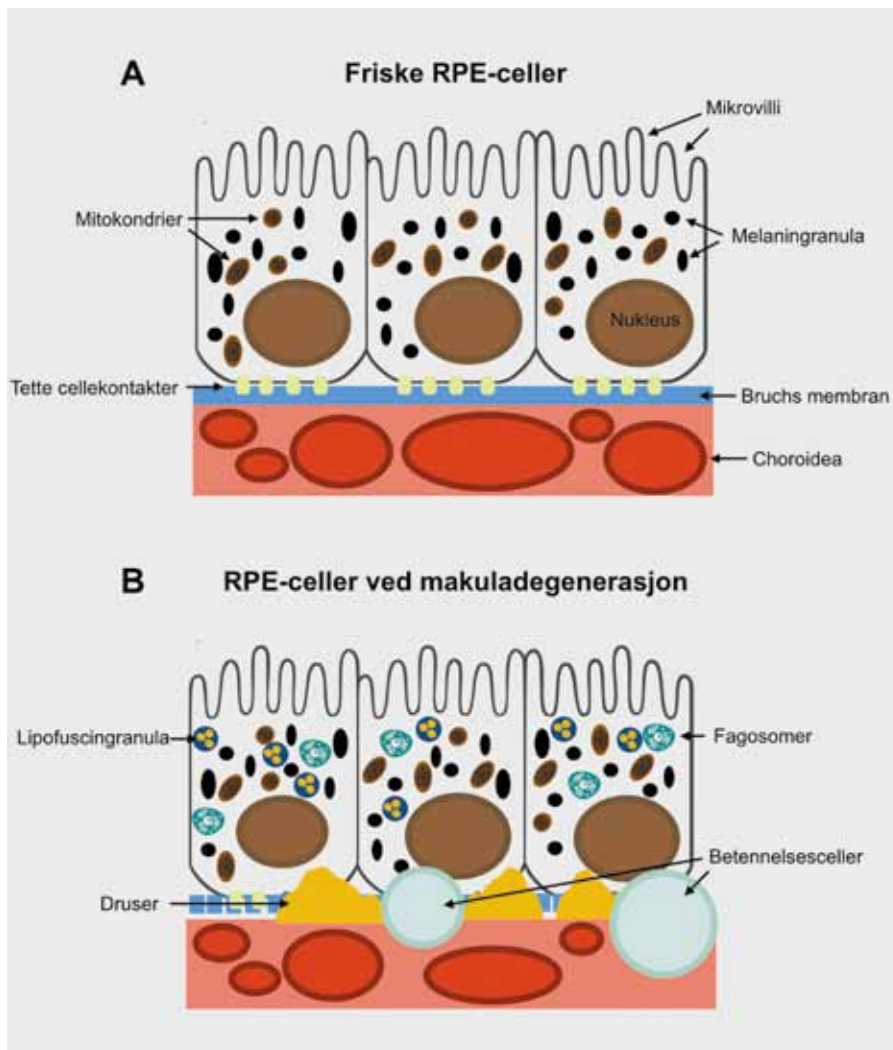
AV LARA PASOVIC, LEGE OG FORSKER, AVD. FOR MEDISINSK BIOKJEMI, OSLO UNIVERSITETSSYKEHUS

## Retinalt pigmentepitel og aldersrelatert makuladegenerasjon

Det retinale pigmentepitelet er et énlaget kubisk epitel lokalisert mellom choroidea og neuroretina<sup>1</sup>. Pigmentepitelet har mange viktige oppgaver: det fagocytterer yttersegmentene til fotoreseptorene, resirkulerer all-trans retinal, secernerer vekstfaktorer og næringsstoffer,

transporterer vann og ioner, fjerner oksidanter og utgjør blod-netthinnebarrieren (Figur 1A).<sup>2-8</sup> Med alderen deponeres acellulære avfallsstoffer, i hovedsak ekstracellulære proteiner og lipider, mellom RPE-cellene og basalmembranen. Dette gir opphav til druser, som er kardinalfunnet ved AMD. Druser kan føre til skade på pigmentepitelet og indusere en kronisk betennelsesprosess (Figur 1B). På sikt kan dette gi opphav til store områder

med netthinneatrofi, nydannelse av kar i retina som følge av ekspresjon av angiogenesefremmende cytokiner, eller en kombinasjon av disse tingene.<sup>9-11</sup> Klinisk arter det seg som bortfall av skarpsynet i form av et sentralt skotom (Figur 2). AMD er den ledende årsaken til blindhet i vesten.<sup>9</sup> Med en aldrende befolkning forventes det en sterk økning i antall pasienter i årene fremover. *The Age-Related Eye Disease Study* (AREDS) estimerte allerede i



**Figur 1: A)** I det friske øyet danner det retinale pigmentepitelet sammen med basalmembranen (Bruchs membran) blod-netthinnebarrieren. RPE-celle kontrollere transport av ioner og næringsstoffer fra choroidea til neuroretina. **B)** Ved makuladegenerasjon er det tilkommet store mengder avfallsstoffer i form av druser mellom choroidea og RPE-celle. Fagocytterte yttersegmenter av fotoreseptorer samles opp i fagosomer. Lys absorberes av lipofuscingranula og gir opphav til oksidativ skade. Samlet fører dette til en betennelsesrespons i netthinne. Betennelsesceller strømmer til, og det oppstår DNA-skader og apoptose. Bruchs membran skades, blod-netthinnebarrieren brytes og nydannede kar kan vokse inn i netthinne. **Figur: Lara Pasovic.**

2003 at åtte millioner amerikanere var rammet av mild AMD, og at én million av disse ville utvikle alvorlig AMD innen fem år.<sup>12</sup> Andre har estimert nesten en dobling av rammede innen 2020.<sup>13</sup> Det finnes i dag ingen kurativ behandling, og for 85 % av pasientene er det ikke noe behandlingstilbud.<sup>14,15</sup>

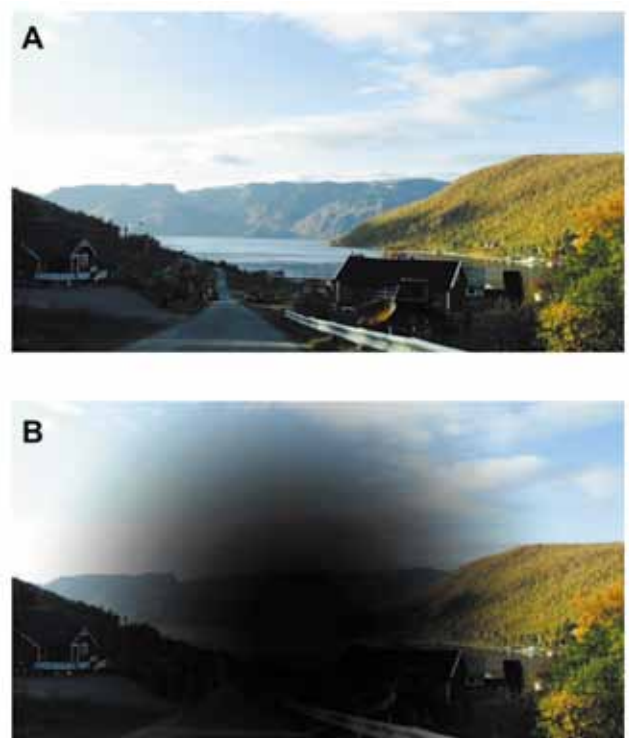
**Transplantasjon av retinale pigmentepitelceller i dyremodeller**

Siden slutten av 90-tallet har flere forskningsgrupper verden over forsøkt å utvikle en kurativ, regenerativ

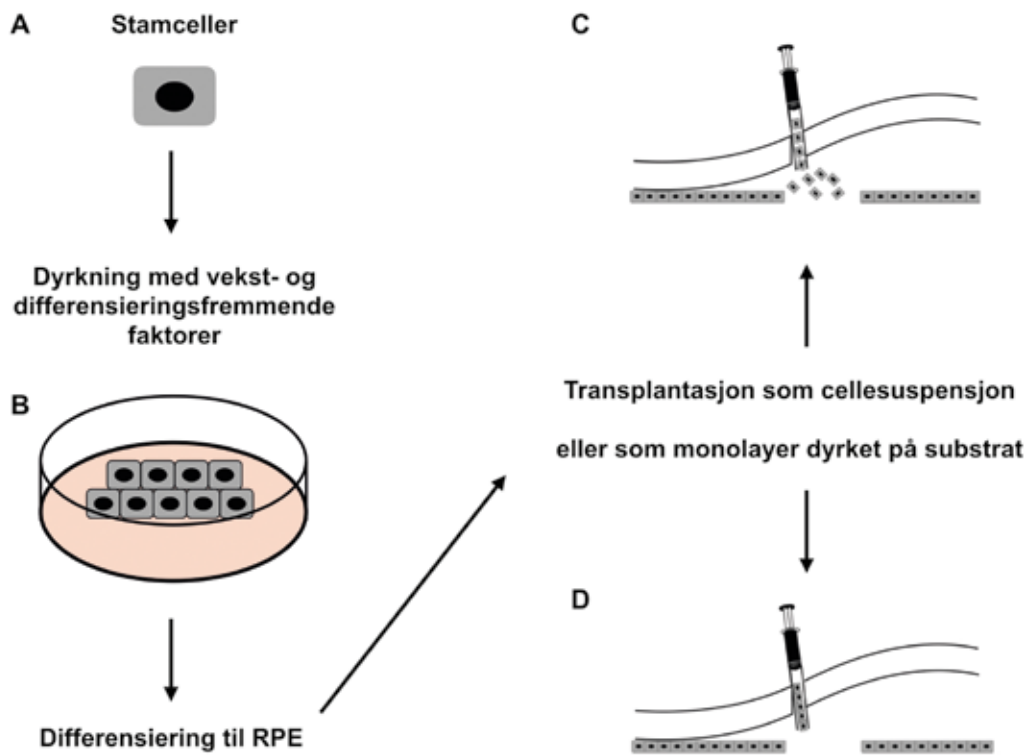
behandling for netthinnesykdommer. Flere dyremodeller er blitt benyttet, blant annet mus<sup>16</sup>, griser<sup>17</sup>, kaniner<sup>18-20</sup> og katter<sup>21</sup>. De mest overbevisende resultatene er blitt demonstrert i en hyppig brukt rottemodell for netthinnedystrofi, *The Royal College of Surgeons (RCS) Rat*. Gjennom ulike tilnærminger og ved bruk av RPE-celler fremstilt fra mange ulike kilder har man vist at transplantasjon av RPE kan bremse, motvirke og til og med reversere degenerasjon av retina i denne modellen.<sup>22-26</sup>

**Transplantasjon av retinale pigmentepitelceller i kliniske studier**

De siste par årene har forskerne rettet blikket mot pasienter. Mest bemerket er studiene til Schwartz og kolleger, publisert i *The Lancet* i 2012 og 2015.<sup>27,28</sup> De demonstrerte vellykket transplantasjon av RPE derivert fra humane embryonale stamceller.



**Figur 2: A)** Normalt synsfelt. **B)** Fremstilling av et sentralt skotom slik det forekommer ved aldersrelatert makuladegenerasjon. **Foto: Lara Pasovic.**



**Figur 3: Transplantasjon av RPE fremstilt fra stamceller. Embryonale stamceller eller induerte pluripotente stamceller (A) dyrkes frem i laboratoriet under definerte betingelser med tilsetningsstoffer som fremmer differensiering til funksjonelle RPE-celler (B). RPE-cellene kan deretter transplanteres til det subretinale rom enten som en suspensjon (C) eller som et monolayer dyrket på en polyestermembran (D). Figur: Lara Pasovic.**

Cellene leveres til det subretinale rom som en suspensjon (Figur 3). Pasientene ble immunosupprimert på tacrolimus i forkant av operasjonen før overgang til mykofenolatmofetil seks uker postoperativt, med en samlet behandlingstid på 13 uker. Forskergruppen kunne ikke finne tegn til ukontrollert cellevekst, som har vært et av hovedargumentene mot bruken av embryonale stamceller. Det britiske forskningsprosjektet *The London Project to Cure Blindness* har satset på transplantasjon av RPE derivert fra autologe induerte pluripotente stamceller høstet fra pasientens egen hud. Disse RPE-cellene blir dyrket på tynne polyestermembraner og transplantert som et monolayer til det subretinale rom (Figur 3).<sup>29</sup> Dette er mer operasjonsteknisk krevende, men gir store fordeler hva angår den anatomiske orienteringen av cellene.<sup>15,30</sup> Kostnadene er imidlertid betydelige, og kan begrense bruken av induerte pluripotente stamceller.<sup>31,32</sup> Transplantasjon av allogene celler er en betraktelig rimeligere løsning, men

fordrer bruk av immundempende medisiner da det er sett omfattende avstøtningsreaksjoner i prekliniske studier der dette ikke er benyttet.<sup>33-37</sup> Pasientene som hittil har fått behandling, har alle vært hardt rammet og hatt omfattende atrofi. Det har derfor ikke vært store forventninger til at disse pasientene skal gjenvinne betydelig synsfunksjon. I tråd med dette har resultatene så langt ikke vært overveldende, men slike proof-of-concept-studier baner vei for å forsøke behandlingen på et tidligere stadium der det fremdeles er fotoreseptorer igjen å berge.

#### Lagring av retinalt pigmentepitel

For at transplantasjon av RPE skal kunne bli et tilgjengelig behandlingsalternativ, er det nødvendig å utvikle lagringsmetoder for disse cellene, slik at de kan fraktes dit pasientene er. Vår forskningsgruppe ved Oslo Universitetssykehus har i flere år jobbet med å utvikle nye dyrknings- og lagringsmetoder for RPE-celler som bevarer cellenes mangfoldige

egenskaper og øker overlevelsen under lagring. Vi har studert effekten av utallige tilsetningsstoffer for å forbedre dyrknings- og lagringsteknologien av RPE-celler.<sup>38-41</sup> Gruppen har blant annet registrert at silkeproteinets sericin kan fremme differensiering og pigmentering av cellene. Det er nyttig da dyrkingstiden for RPE-celler normalt er lang, hvilket kompliserer prosedyren. Vi har også utviklet en lagringsmetode som gjør det mulig å lagre cellene i kjøleskapstemperatur, slik at man også unngår ressurskrevende kryopreservering som kan indusere fryseskader på cellene.<sup>42-44</sup> Både dyrknings- og lagringsmetoden er blitt patentsøkt av Inven2, teknologioverføringselskapet for Oslo Universitetssykehus og Universitetet i Oslo. Det gjenstår fremdeles mye arbeid før regenerativ behandling kan bli et behandlingstilbud, men i historisk perspektiv er neste store gjennombrudd kanskje bare et øyeblikk unna.

Referanser: [www.oftalmolog.com](http://www.oftalmolog.com) ■