

Molekulare Werkzeuge zur Wiederherstellung von arthrotischem Knorpel

Wachstumsfaktoren, Transkriptionsfaktoren und Signalmoleküle

Bei der Arthrose führen ungenügende Reparaturreaktionen auf molekularer Ebene zur phänotypischen Veränderung der Chondrozyten und einem Verlust von extrazellulärer Matrix und schließlich zu einem Abbau des Gelenkknorpels. Arthrose beruht auf einer Kombination verschiedener Risikofaktoren (Trauma, Adipositas, genetische Prädisposition, Geschlecht, Alter) sowie einem Ungleichgewicht physiologischer Prozesse.

Im Gelenkknorpel liegen die Chondrozyten als terminal differenzierte Zellen ohne Proliferationsaktivität vor, die durch ihren geringen Stoffwechsel die extrazelluläre Matrix aufrechterhalten (■ Abb. 1). Mechanische Belastung, biochemische Stressparameter wie proinflammatorische Zytokine (IL-1 und TNF- α , NO, Prostaglandine, Abbauprodukte der Knorpelmatrix), genetische Prädisposition oder Alterungsprozesse führen zu einer pathologischen Veränderung der Genexpression in Knorpelzellen, die eine vorübergehende Proliferationsaktivität und die Produktion von Proteinen auslösen, die natürlicherweise nicht im adulten Knorpel vorhanden sind (Typ-X-, Typ-III-, Typ-VI- und Typ-IIa-Kollagen). Diese frustrane Knorpelreparatur mündet in einer geschädigten zel-

lulären Homöostase mit verminderter Produktion normaler Matrixkomponenten (Proteoglykane, Typ-IIa-Kollagen), vermehrter Produktion matrixabbauender Enzyme [Matrixmetalloproteasen (MMP) sowie Adamalysin (ADAM, ADAMT)] und Seneszenz mit anschließender Apoptose der Chondrozyten (NO und Fas/FasL-Signalweg).

Neben der charakteristischen Destruktion des hyalinen Gelenkknorpels geht die Arthrose mit Osteophytenbildung, subchondraler Sklerose, Synovitis, intraartikulären Ergüssen und Schwellung der Gelenkkapsel einher (■ Abb. 2).

■ **Schwierigkeiten in der Behandlung von Arthrose ergeben sich aus dem schwierigen Erkennen von Frühstadien, ihrem oftmals sehr langsamen und irreversiblen Fortschreiten, der eingeschränkten Fähigkeit des Knorpelgewebes, neue Matrixkomponenten zu bilden sowie dem Fehlen eines biochemischen Indikators zur Therapiebeurteilung.**

Zudem ist der direkte therapeutische Zugang zu den Knorpelzellen erschwert, da sie in eine dichte extrazelluläre Matrix eingebettet sind. Neben dem Gelenkknorpel sind der subchondrale Knochen, Osteophyten und die Synovialmembran weitere therapeutische Angriffspunkte.

Eine sinnvolle Behandlung der Arthrose sollte kausal, effizient, dauerhaft und sicher sein. Molekulare Therapien, bei denen biologische Komponenten zur Behandlung eingesetzt werden, könnten diese Anforderungen theoretisch erfüllen. Folgenden Fragen stellen sich hierbei:

1. Welche therapeutischen Komponenten sollten eingesetzt werden?
2. Wie sollten deren Applikation in das Zielgewebe erfolgen?
3. Wo sollten diese Komponenten appliziert werden?

Therapeutische Wirkstoffkandidaten

Die Regeneration eines arthrotischen Gelenkknorpels zu einer normal strukturierten und funktionellen Einheit über molekulare Wirkstoffe kann theoretisch auf folgenden Ebenen erreicht werden (■ Tab. 1):

1. Hemmung inflammatorischer und kataboler Prozesse,
2. Aktivierung der Matrixsynthese,
3. Hemmung der Zellalterung,
4. Hemmung der Osteophytenbildung und der subchondralen Sklerose.

Obwohl diese Punkte auch gezielt einzeln angegangen werden können, erscheint eine kombinierte Herangehensweise sinnvoll.

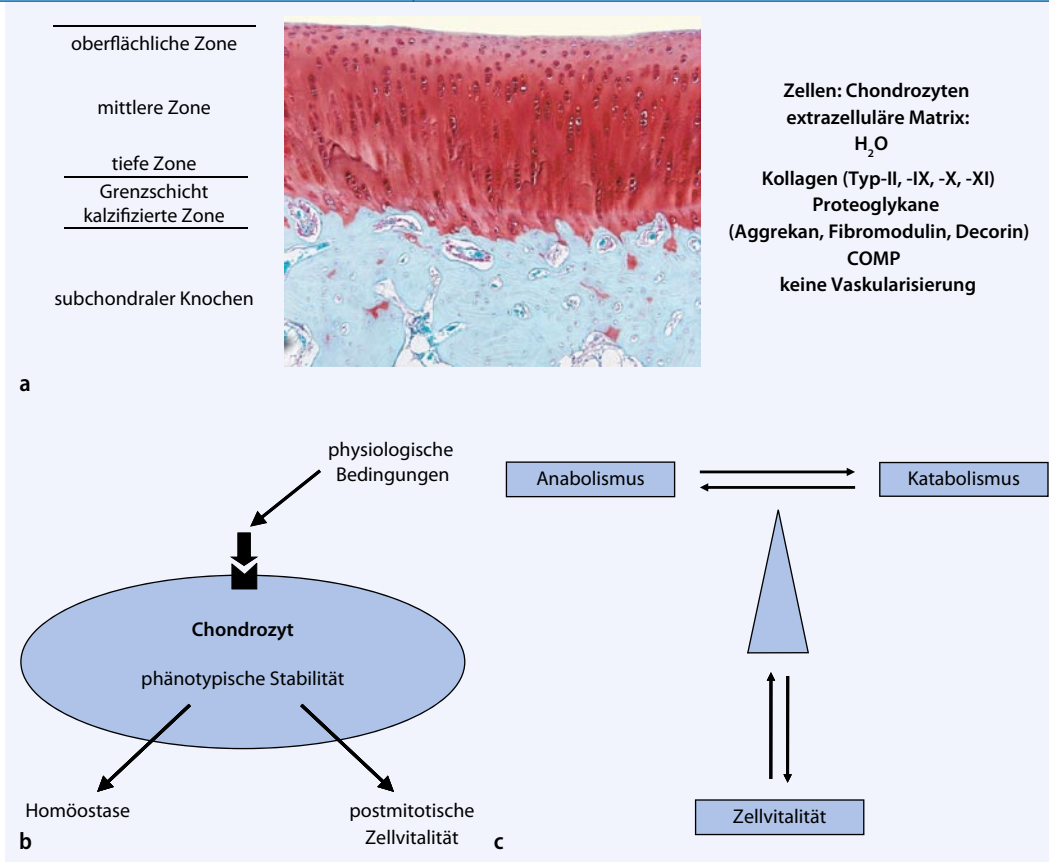


Abb. 1 ◀ Histologische und biologische Eigenschaften von normalem humanem Gelenkknorpel. **a** Histomorphologisches Bild von normalem Gelenkknorpel (Safranin-O-Färbung). **b** Darstellung eines gesunden Chondrozyten und **c** normaler Knorpelhomöostase

Hemmung inflammatorischer und kataboler Prozesse

Inhibitoren von knorpelabbauenden Enzymen sind Gewebehemmer (TIMP) von Metalloproteinasen (MMP), dem Urokinasety Plasminogenaktivatorinhibitor (PAI), Inhibitoren des NF-κB/IKK-Systems und Osteoprotegerin (OPG). Am vielversprechendsten zeigen sich proinflammatorische Zytokine, wie IL-1Ra [1, 2, 3], lösliche Rezeptoren wie sIL-1R, sTNFR [4], Gen-Silencer [5] und Enzyme gegen Glucosamininderivate [6]. Protektive Zytokine wie IL-4, -10, -11, -13, IFN, HSP70, Inhibitoren von iNOS sowie antioxidative Enzyme wie SOD und Katalase sind weitere Kandidaten.

Hinsichtlich der Hemmung kataboler Stoffwechselwege führte die Überexpression von sTNFR1, einem Inhibitor von IKKβ in Synovialzellen zur Reduktion der Synthese von TNF-α, wodurch die TNF-α-vermittelte Zytotoxizität in apoptosesensitiven Zellen verhindert und die Produktion von Kollagenasen reduziert wird [7].

Aktivierung der Matrixsynthese

Verschiedene experimentelle Strategien aktivierten erfolgreich anabole Prozesse, wie Applikation von Matrixkomponenten und deren Vorläuferproteinen [8], Enzymen [9], Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren, wie IGF-I, FGF-2, FGF-18, FGFR3, BMP (BMP-2, -4, -7, -12, -13), TGF-β, CDMP/GDF, PTHrP, PDGF, EGF, HGF, CTGF [10]. Aktuelle Arbeiten untersuchten Signalmoleküle wie Wnt [11] und Hedgehog-Proteine (Shh, Ihh) [12], Transkriptionsfaktoren wie Sox5, Sox6, Sox9 [13] und das *Brahyury*-Gen [14].

Wir erreichten eine dosisabhängig erhöhte Synthese von Komponenten der extrazellulären Matrix (Proteoglykane und Typ-II-Kollagen) durch rAAV-vermittelten Gentransfer von SOX9 in dreidimensionalen (3D-)Kulturen von humanen normalen und arthrotischen Chondrozyten und in Knorpelimplantaten [13]. Beachtlicherweise lagen dadurch diese Matrixbestandteile wieder in einer Quantität in arthrotischen Knorpelimplantaten vor, die dem von norma-

lem, nichtarthrotischen humanen Knorpel entspricht. Eine FGF2-Überexpression in Chondrozyten aus humanem normalen und arthrotischen Knorpel steigerte selektiv ihre Zellproliferation und Vitalität [15].

► Transfer von Faktoren, die sowohl proliferative als auch anabole Prozesse beeinflussen

Ein interessanter Ansatz basiert auf dem kombinierten Transfer von Faktoren, die sowohl proliferative als auch anabole Prozesse beeinflussen. So stimuliert eine kombinierte Überexpression von FGF2 und SOX9 simultan Zellproliferation, Proteoglykan- und Typ-II-Kollagensynthese in humanen normalen und arthrotischen Knorpelimplantaten [15]. Gleichzeitig reduziert war die Synthese von Typ-X-Kollagen, ein Marker für Hypertrophie. Somit resultierte eine verbesserte Neusynthese von Schlüsselkomponenten einer normalen Knorpelstruktur bei gleichzeitiger Hemmung der katabolen Knorpelhomöostase (■ **Abb. 3**). Bemerkenswert ist auch die Stimulati-

on anaboler Prozesse mit gleichzeitiger Hemmung kataboler Prozesse (IGF-I mit IL-1Ra oder IL-1-shRNA) [16].

Hemmung der Zellalterung

Inhibitoren der Seneszenz, wie Telomerase (hTERT [17]) oder Apoptoseinhibitoren (bcl-2, bcl-XL, anti-FasL, anti-p53, IFN- γ [18]) hemmen die Zellalterung und sind potentielle therapeutische Kandidaten.

Hemmung der Osteophytenbildung und der subchondralen Sklerose

Hierzu gibt es bislang nur sehr wenige experimentelle Daten. Theoretisch können Inhibitoren und Antagonisten von Wachstumsfaktoren wie TGF- β oder BMP oder lösliche Rezeptoren wie Smads, Noggin, Chordin, PTHrP, Ihh und Shh die Osteophytenbildung und subchondrale Sklerose hemmen.

Molekulare Therapiemöglichkeiten und therapeutische Ziele

Genstransfer ist eine theoretisch elegante Möglichkeit, eine lange Verfügbarkeit eines molekularen Wirkstoffs im Gelenkknorpel (im Gegensatz zum rekombinanten Protein mit kurzer Halbwertszeit) insbesondere im Hinblick auf die langsam voranschreitende Natur der Arthrose zu gewährleisten. Hierzu muss die genetische Sequenz des jeweiligen Proteins effizient und dauerhaft in Knorpelzellen in situ eingeschleust werden. Virale Vektoren (auf der Basis von rekombinanten Adenoviren, Herpes-simplex-Viren, Retroviren, Lentiviren und adenoassoziierten Viren) oder nichtvirale Vektoren sind hierzu geeignet [10, 19]. Neben Chondrozyten sind auch Zellen der Synovialmembran, Vorläuferzellen sowie Muskelzellen mögliche Zielzellen. Ein entscheidender Fortschritt für eine mögliche Arthrosetherapie war die Erkenntnis, dass rAAV-Vektoren aufgrund ihrer geringen Größe (20 nm) die dichte Knorpelmatrix durchdringen und effizient sowie dauerhaft Chondrozyten sowohl in humanem normalen als auch arthrotischen Knorpel transduzieren [15, 20, 21].

Zusammenfassung · Abstract

Orthopäde 2009 · 38:1063–1070 DOI 10.1007/s00132-009-1495-6
© Springer Medizin Verlag 2009

M. Cucchiari · S. Heiligenstein · D. Kohn · H. Madry

Molekulare Werkzeuge zur Wiederherstellung von arthrotischem Knorpel. Wachstumsfaktoren, Transkriptionsfaktoren und Signalmoleküle

Zusammenfassung

Die Arthrose ist eine chronische Gelenkerkrankung, die sich durch eine schrittweise Abnutzung des Gelenkknorpels auszeichnet und für die keine kausale Therapie existiert. Eine experimentelle Möglichkeit der Arthrosetherapie basiert auf der Verwendung von Wachstumsfaktoren, Transkriptionsfaktoren und Signalmolekülen, welche die Knorpelhomöostase regulieren. Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass die Überexpression derartiger potentieller Therapiemoleküle durch direkten Genstransfer oder durch Ex-vivo-Protokolle die Zellproliferation und Matrixsynthese in humanen arthrotischen Knorpelimplantaten sowie im Tiermodell stimulieren. Als Resultat dieser Prozesse liegt eine

verbesserte Struktur des Gelenkknorpels vor. Ein besseres Verständnis der grundlegenden Vorgänge der Pathophysiologie der Arthrose ist jedoch nötig, um derartige molekulare Therapien klinisch zu etablieren. Ebenso bedarf es weiterer Studien am Tiermodell, um neue Moleküle zu testen und die Probleme einer effizienten Applikation dieser Faktoren zu lösen. Die Daten aus experimentellen und ersten klinischen Studien erlauben vorsichtigen Optimismus.

Schlüsselwörter

Arthrose · Genstransfer · Molekulare Gentherapie · Nichtvirale Vektoren · rAAV

Molecular tools to remodel osteoarthritic articular cartilage. Growth, transcription, and signaling factors

Abstract

Osteoarthritis (OA) is a chronic disorder of the diarthrodial joints, mostly characterized by gradual deterioration of the articular cartilage. This disease still has no effective treatment. An emerging strategy for treating OA is based on molecular concepts using growth factors, transcription factors, and signaling molecules in light of their effects on the restoration of cartilage integrity. Recent studies have demonstrated that overexpression of such candidate molecules using direct gene transfer or ex vivo protocols is capable of stimulating cell proliferation and matrix synthesis in normal human and OA cartilage ex-

plants in vitro as well as in animal models in vivo. As a result, the structure of the articular cartilage can be improved. More insights into the pathophysiology of human OA and further studies in animal models are needed, however, to facilitate clinical translation of these molecular approaches. In conclusion, recent experimental findings permit cautious optimism, holding promise for treating human OA in the future.

Keywords

Osteoarthritis · Gene transfer · Molecular therapy · Nonviral vectors · rAAV

Tab. 1 Therapeutische Wirkstoffkandidaten		
Wirkungsmechanismus	Kategorie oder Zugehörigkeit zur Proteinfamilie	Komponenten
Katabolismus (Knorpel)	Proteinaseinhibitoren	TIMP, PAI, Serpin, Silencer, Decoy Oligodeoxynukleotide (NF-κB/IKK)
	Zytokinantagonisten, Zytokininhibitoren	OPG, IL-1Ra, sIL-1R, sTNFR, ICE-Inhibitor, IL-1-shRNA GFAT
	Protektive Zytokine	IL (4, 10, 11, 13), IFN (β, γ)
	Signalmoleküle, antioxidative Enzyme, andere	HSP70, iNOS-Inhibitor (L-NIL), SOD, Katalase, Smads
Anabolismus (Knorpel)	Matrixkomponenten, Matrixvorläufermoleküle	Type-II Kollagen, Proteoglykane, COMP, CD-RAP Glucosamin
	Matrixproduzierende Enzyme	GlcAT-I
	Wachstumsfaktoren und Rezeptoren	IGF-I, FGF-2, FGF-18, FGFR3, BMP (2, 4, 7, 12, 13), TGF-β, CDMP-GDF, PTHrP, PDGF, EGF, HGF, CTGF
	Signalmoleküle	Wnts (3a, 5a, 5b), Hedgehog (Shh, Ihh)
	Transkriptionsfaktoren	Sox (5, 6, 9), Brachyury
Zellvitalität	Seneszenzinhibitoren	hTERT
	Apoptoseinhibitoren	bcl-2, bcl-XL, andere Caspaseinhibitoren, anti-FasL, anti-p53, IFN-γ
Anabolismus (Knochen/Osteophyten)	Wachstumsfaktorinhibitoren	lösliche Rezeptoren, inhibitorische Smads, Noggin, Chordin, mLAP-1
	Inhibitoren der terminalen Differenzierung	PTHrP, Ihh, Shh

Tab. 2 Tiermodelle der Arthrose		
Modell	Typ	Spezies
Spontan	Alterung	Maus, Ratte, Meerschweinchen, Schaf
	STR/ort	Maus
Genetisch modifiziert	Knock-out (ADAMTS-5, Biglycan/Fibromodulin, IL-6)	Maus
	transgen (Del1, Cathepsin K) <i>Chol+</i> , BMP-Rezeptor Typ 1a, Mig, IL-1β, ICE, iNOS	
Chirurgisch induziert	Durchtrennung des VKB	Maus, Ratte, Kanninchen, Katze, Hund
	Menisektomie (partiell)	Maus, Ratte, Meerschweinchen, Schaf
	Teil- und vollschichtiger Gelenkknorpeldefekt	Ratte, Kanninchen
	Mechanische Belastung	Hund
	Ovarektomie	Ratte, Schaf
Enzymatisch/chemisch induziert	Kollagenase, TGF-β, Iodacetat	Maus

Strategien des Gentransfers in arthrotische Gelenke

Wie sind die Zielzellen im Gelenk am effektivsten erreichbar? Folgende Ansätze wurden hierzu in Tiermodellen (■ Tab. 2) untersucht:

1. systemische Applikation,
2. lokale Applikation,
 - intraartikuläre Injektion,
 - durch Arthrotomie.

Systemische Applikation

Da die systemische Applikation eines Genvektors zu hohen Wirkstoffkonzentrationen im avaskulären Gelenkknorpel führen soll, erscheint sie besser für Erkrankungen der gut vaskularisierten Synovialmembran geeignet.

Lokale Applikation

Mit einer lokalen Gabe können Nebenwirkungen minimiert und das Risiko einer Exposition nicht betroffener Organe reduziert werden. Der Genvektor könnte direkt oder indirekt verabreicht werden. Beim direkten Ansatz werden körpereigene Zellen direkt transduziert, während der indirekte Ansatz die Gabe von genetisch modifizierten Zellen beinhaltet. In beiden Fällen kann sich das therapeutische Genprodukt im Gelenkspalt verteilen und mit dem Knorpel und der Synovialmembran interagieren.

Direkte Applikation durch intraartikuläre Injektion

Durch intraartikuläre Injektion unterschiedlicher Vektortypen werden bevor-

zugt Zellen der Synovialmembran transduziert, jedoch mit nur kurzer Dauer der Transgenexpression [22]. Daher ist sie v. a. geeignet, entzündliche und katabole Prozesse der Arthrose zu inhibieren, wie Studien in Tiermodellen mit IL-1Ra [23], sTNFR [24], IL-4 [25], IL-10 [26], oder NF-κB/IKK-Inhibitor zeigten [27]. Injektion von genetisch modifizierten Fibroblasten, welche IGF-I und BMP-2 [28] sezernierten, führte zu vermehrter Synthese extrazellulärer Matrix.

Ein effizienter und dauerhafter direkter Therapieansatz für Chondrozyten des Gelenkknorpels erwies sich für lange Zeit als schwierig. Eine intraartikuläre Injektion von rAAV- und adenoviralen Vektoren in gesunde Kniegelenke erreicht nur wenige Chondrozyten; bei arthritisch oder arthrotisch geschädigtem Gelenkknorpel werden jedoch mehr Zellen transduziert [22, 29]. Konsequenterweise führte die Applikation eines adenoviralen Kallistatin-Vektors zu reduzierten IL-1- und TNF-α-Spiegeln sowie histologisch verminderter Arthrose [30]. Bei der direkten Applikation viraler Vektoren, egal welcher Klasse, stellt sich die Frage des Sicherheitsaspekts, da transfizierendes oder auch potentiell infektiöses Material direkt in den Körper gelangt. Dies ist ein wichtiger Aspekt, da die Arthrose nicht lebensbedrohlich ist. Die Applikation von lentiviralen Vektoren ist umstritten, da sie, wie auch retrovirale Vektoren, ein großes Risiko einer Insertionsmutagenese tragen. Im Gegensatz dazu ist rAAV in der Lage teilungsfähige und teilungsunfähige Zellen (wie Chondrozyten) zu transduzieren

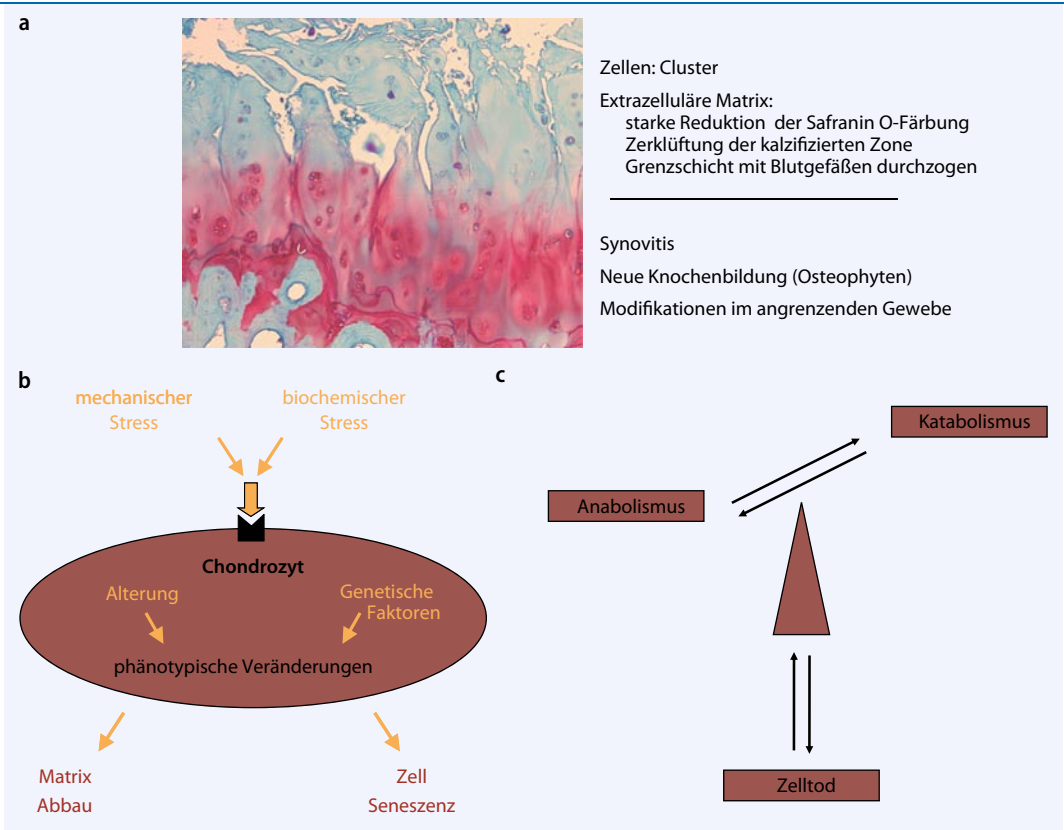


Abb. 2 ▶ Histologische und biologische Eigenschaften einer weit fortgeschrittenen Arthrose. **a** Histomorphologisches Bild von arthrotischem Gelenkknorpel (Safranin-O-Färbung). **b** Darstellung eines arthrotischen Chondrozyten und **c** arthrotischer Knorpelhomöostase

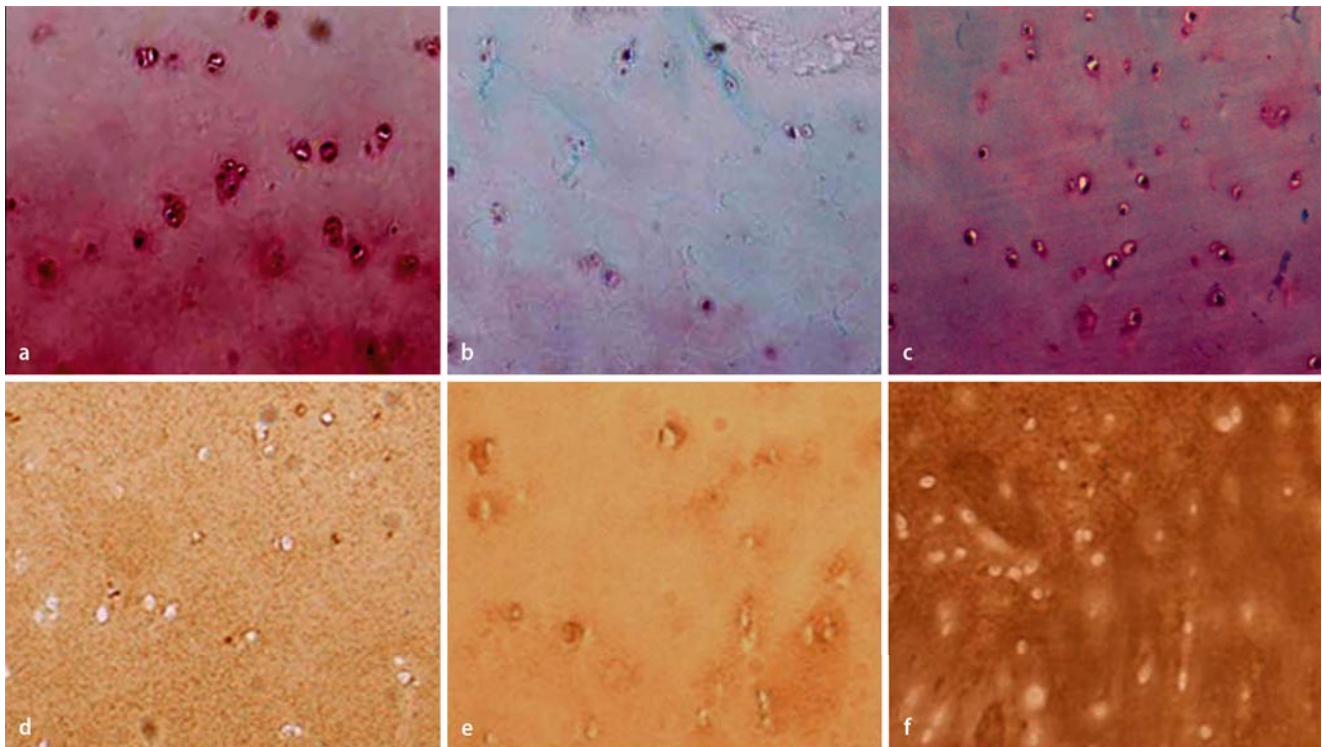


Abb. 3 ▲ Histologische und immunohistochemische Analyse eines humanen normalen und arthrotischen Knorpels. Safranin-O-Färbung (**a, b, c**) und immunologischer Nachweis von Typ-II-Kollagen (**d, e, f**) in gesundem (Negativkontrolle; **a, d**) und arthrotischem Knorpel (**b, e**) im Vergleich zu humanem arthrotischem Knorpel behandelt mit rAAV-Vektoren, welche die Transgene für FGF-2 und SOX9 trugen (**c, f**)

ren und Transgene zu übertragen, die auf stabilen und transkriptionskompetenten Episomen in der Zelle vorliegen.

Andere virale und nichtvirale Vektoren scheinen deutlich weniger geeignet, im Knorpel eine Transgenexpression zu erzielen. Dennoch zeigten Grossin et al. [31] eine Verringerung arthrotischer Degeneration des retropatellaren Knorpels nach In-vivo-Elektroporation eines Plasmidvektors für HSP70.

Indirekte Applikation

Obwohl durch die Manipulation autologer Zellen vor der Reimplantation komplexer, teurer und chirurgisch aufwendiger, erscheint diese Ex-vivo-Gentherapie sicherer, da keine freien Gentransfervektoren in den Körper gelangen. Modifizierte Zellen können in Kultur kontrolliert, getestet und selektiert werden; ein Vorteil bei Vektoren mit geringer Effizienz. Im Falle einer schweren Arthrose erfüllt die Verabreichung der Zellen auch

den theoretisch denkbaren Zweck, die lokale Zelldichte zu erhöhen.

Ex-vivo-Gentherapie sicherer, da keine freien Gentransfervektoren in den Körper gelangen

Bislang wurden häufig Synovialzellen verwendet. Inhibitoren entzündlicher und kataboler Prozesse wie IL-1Ra [1, 3], IL-10/IL-1Ra [32], SOD und Katalase/SOD [33] wurden durch intraartikuläre Injektion modifizierter Synovialzellen in Arthrosentiermodellen bereitgestellt. So führten aus quergestreiftem Muskelgewebe isolierte Stammzellen, welche nach retroviralem Gentransfer BMP-4 und sFlt-1 (ein VEGF-Antagonist) überexprimierten, in einem Arthrosemodell zu verbesserter Knorpelreparatur ohne Osteophytenbildung [34]. Obwohl Chondrozyten bereits im Rahmen einer ACT routinemäßig transplantiert werden, liegen kei-

ne Studien zu ihrer Verwendung als Genehikel für Arthrosetherapie vor.

Mesenchymale Stammzellen (MSC) haben attraktive Eigenschaften für eine therapeutische Anwendung [35].

Sie können relativ leicht aus unterschiedlichen Geweben (z. B. Knochenmark, Periost, Muskel, Fett, Synovialmembran) auch von Arthrosethropatienten gewonnen werden. MSC sind multipotent und unter geeigneten Kultivierungsbedingungen zuverlässig differenzierbar, regenerierbar und wachstumsfähig. Bemerkenswerterweise zeigten MSC bis jetzt noch keine Anzeichen der Tumorigenität oder immunologischer Folgeerscheinungen, sondern besonders immunsuppressive Eigenschaften, die eine Allo- und Xenotransplantation möglich machen [36]. Die genetische Modifikation dieser MSC erscheint attraktiv, um Signalwege einzuschalten oder

Hier steht eine Anzeige.

zu verstärken, um eine hinreichende Anzahl an adäquaten ausdifferenzierten Chondrozyten zu erhalten. Vermieden werden sollte dabei eine Hypertrophie, Seneszenz und Dedifferenzierung, oder sogar der Zelltod [37]. Gentransfer von BMP-2 [38], TGF- β [39] und GDF-5 [40] resultierte in einer erfolgreichen Differenzierung von MSC. Pagnotto et al. [39] transplantierten rAAV-TGF- β -transduzierte MSC in einem fokalen osteochondralen Defektmodell und zeigten eine verbesserte Knorpelreparatur. Entsprechende Studien in Arthrosemodellen stehen noch aus.

Eine Herausforderung wird sein, arthrotische Defektareale wieder hinreichend mit transplantierten Zellen zu besiedeln und diese Zellen sicher an ihrem Wirkungsort zu halten. Möglicherweise kann dieses Problem durch das Einbringen der modifizierten Zellen in dreidimensionalen Strukturen gelöst werden. Obwohl für fokale, nichtarthrotische Defekte hinreichend etabliert, ist ihre Anwendbarkeit für das Problem der oftmals großflächigen arthrotischen Knorpelzerstörung bislang weitgehend unerforscht.

Klinische Studien

Die erste klinische Studie basierte auf retroviralen Ex-vivo-Gentransfer von IL-1Ra in Synovialzellen von Patienten mit rheumatoider Arthritis und anschließender intraartikulärer Injektion der modifizierten Zellen in Metakarpophalangealgelenke. Evans et al. [19, 41] belegten eine erfolgreiche lokale Genexpression ohne Nebenwirkungen und eine Verbesserung des klinischen Befunds in einigen Patienten, was zur Durchführung einer noch andauernden klinischen Phase-II-Studie führte.

Eine weitere Phase-I-Studie untersuchte die direkte, intraartikuläre Injektion von rAAV, welches die Sequenz für das Fusionsprotein aus sTNFR und einem Teil des IgG-1-Immunglobulins enthielt (tgAAC94 Protokoll [42]). Da sich die Therapie in dieser Phase als sicher und gut verträglich erwies (ohne dass gleichzeitig systemische TNF- α -Antagonisten eingesetzt werden mussten), wurde eine Studie der Phase I/II eingeleitet [43]. Hier erfolgte eine zweite intraartikuläre tg-

AAC94-Injektion mit gleichzeitiger systemischer Therapie mit TNF- α -Antagonisten. Als einer der Studienteilnehmer, der gleichzeitig mit systemischen TNF- α -Antagonisten und anderen Immunsuppressiva behandelt wurde, nach der zweiten Vektorinjektion verstarb, wurde die Studie ausgesetzt. Die Todesursache beruhte auf der Kombination einer Infektion mit *Histoplasma capsulatum* (einem endemisch verbreitetem Pilz aus der Ursprungsregion des Probanden) und der Immunsuppression. Dieser spezielle TNF- α -Antagonist ist für seine Empfindlichkeit gegenüber *Histoplasma capsulatum* bekannt, und es ist wahrscheinlich, dass der Proband vor der zweiten Injektion bereits infiziert war. Die Studie wurde deshalb weitergeführt. Aktuell sind weitere 3 Phase-I-Studien anhängig, davon zwei Ex-vivo-Transfersysteme von TGF- β durch retrovirale Vektoren [44] und ein Test mit direkter, intraartikulärer Injektion von IL-1Ra rAAV.

Fazit für die Praxis

Obwohl bemerkenswerte Fortschritte auf dem Gebiet der Arthrosetherapie gemacht wurden, sind die derzeitigen Therapieformen nicht geeignet, die Arthrose vollständig zu heilen. Es gibt eine wachsende experimentelle Beweislast zugunsten einer molekularen Therapie der Arthrose auf Basis der Anwendung von Wachstumsfaktoren, Transkriptionsfaktoren und Signalmolekülen. Hierdurch konnte in Explantat- und Tiermodellen ein Wiederaufbau von arthrotisch geschädigtem Knorpel erreicht werden. Besonders rAAV-Vektoren sind aufgrund ihrer einzigartigen Fähigkeit zur Transduktion von Knorpelzellen, die sich in ihrer dichten extrazellulären Matrix befinden, gut für derartige Ansätze geeignet. Da die Arthrose wenig extraartikuläre Auswirkungen hat, scheint eine intraartikuläre Therapie über In-vivo- oder Ex-vivo-Protokolle am geeignetsten. Ein besseres Verständnis der grundlegenden Vorgänge der Pathophysiologie der Arthrose ist nötig, um genbasierte Therapien zu etablieren. Ebenso bedarf es weiterer Studien am Tiermodell, um neue Moleküle zu testen und die Probleme einer effizienten Applikation zu lösen. Die

Daten aus den experimentellen und ersten klinischen Studien erlauben vorsichtigen Optimismus.

Korrespondenzadresse

PD Dr. rer. nat. M. Cucchiari



Labor für Experimentelle Orthopädie, Klinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes
Kirrbergerstraße 37,
66421 Homburg/Saar
mmcucchiari@hotmail.com

Danksagung. Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und die Deutsche Arthrose-Hilfe.

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Bandara G, Mueller GM, Galea-Lauri J et al (1993) Intraarticular expression of biologically active interleukin 1-receptor-antagonist protein by ex vivo gene transfer. Proc Natl Acad Sci USA 90:10764–10768
2. Baragi VM, Renkiewicz RR, Jordan H et al (1995) Transplantation of transduced chondrocytes protects articular cartilage from interleukin 1-induced extracellular matrix degradation. J Clin Invest 96:2454–2460
3. Pelletier JP, Caron JP, Evans C et al (1997) In vivo suppression of early experimental osteoarthritis by interleukin-1 receptor antagonist using gene therapy. Arthritis Rheum 40:1012–1019
4. Ghivizzani SC, Lechman ER, Kang R et al (1998) Direct adenovirus-mediated gene transfer of interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha soluble receptors to rabbit knees with experimental arthritis has local and distal anti-arthritic effects. Proc Natl Acad Sci USA 95:4613–4618
5. Nixon AJ, Strassheim ML (2007) Targeted catabolic gene knockdown in chondrocytes using small interfering RNA for arthritis control. Trans ORS 53:0512
6. Gouze JN, Gouze E, Palmer GD et al (2004) Adenovirus-mediated gene transfer of glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase antagonizes the effects of interleukin-1beta on rat chondrocytes. Osteoarthritis Cartilage 12:217–224
7. Adriaansen J, Khoury M, de Cortie CJ et al (2007) Reduction of arthritis following intra-articular administration of an adeno-associated virus serotype 5 expressing a disease-inducible TNF-blocking agent. Ann Rheum Dis 66:1143–1150
8. Dharmavaram RM, Liu G, Tuan RS et al (1999) Stable transfection of human fetal chondrocytes with a type II procollagen minigene: expression of the mutant protein and alterations in the structure of the extracellular matrix in vitro. Arthritis Rheum 42:1433–1442
9. Venkatesan N, Barre L, Benani A et al (2004) Stimulation of proteoglycan synthesis by glucuronosyltransferase-I gene delivery: a strategy to promote cartilage repair. Proc Natl Acad Sci USA 101:18087–18092

Angehörige können chronische Schmerzen lindern

Der Einfluss von Angehörigen auf das Schmerzverhalten ist erwiesen:

Familiäre Normen prägen den Umgang mit einer Krankheit. In der Familie entstehen Gewohnheiten, die Gesundheit fördern oder aber behindern können. In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass die Behandlung von Patienten in interdisziplinären Zentren erfolgreicher ist, je mehr sie von ihren Familien unterstützt wurden. Im Beisein besonders fürsorglicher Angehöriger zeigten sich die Schmerzpatienten jedoch häufig klagsamer und hatten stärkere funktionale Einschränkungen als ohne ihre Partner.

Beim Deutschen Schmerzkongress wurden Studien vorgestellt, die zeigen, dass die Einbindung des Partners in den Behandlungsprozess durch den Abbau von übermäßig zuwendendem bzw. bestrafendem Partnerverhalten in Kombination mit dem Aufbau von gesundem Verhalten und aktiv verarbeitenden Gedanken zur Reduktion von Schmerzwahrnehmung führt. Außerdem stellen die Forscher Instrumente vor, mit denen in der Praxis schnell und unkompliziert Daten zum Partnerverhalten gesammelt werden könnten. Der sogenannte „Spouse Response Inventory“ wurde von einer Arbeitsgruppe des UniversitätsSchmerzCentrums Dresden aus dem amerikanischen übersetzt und an verschiedenen Gruppen von Schmerzpatienten validiert.

Quelle: *Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, www.uniklinikum-dresden.de*

10. Cucchiari M, Madry H (2005) Gene therapy for cartilage defects. *J Gene Med* 7:1495–1509
11. Yano F, Kugimiya F, Ohba S et al (2005) The canonical Wnt signaling pathway promotes chondrocyte differentiation in a Sox9-dependent manner. *Biochem Biophys Res Commun* 333:1300–1308
12. Warzecha J, Gottig S, Bruning C et al (2006) Sonic hedgehog protein promotes proliferation and chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro. *J Orthop Sci* 11:491–496
13. Cucchiari M, Thurn T, Weimer A et al (2007) Restoration of the extracellular matrix in human osteoarthritic articular cartilage by overexpression of the transcription factor SOX9. *Arthritis Rheum* 56:158–167
14. Hoffmann A, Czichos S, Kaps C et al (2002) The T-box transcription factor Brachyury mediates cartilage development in mesenchymal stem cell line C3H10T1/2. *J Cell Sci* 115:769–781
15. Cucchiari M, Terwilliger EF, Kohn D et al (2008) Remodeling of human osteoarthritic cartilage by FGF-2, alone or combined with Sox9 via rAAV gene transfer. *J Cell Mol Med* 14:14
16. Nixon AJ, Haupt JL, Frisbie DD et al (2005) Gene-mediated restoration of cartilage matrix by combination insulin-like growth factor-1/interleukin-1 receptor antagonist therapy. *Gene Ther* 12:177–186
17. Piera-Velazquez S, Jimenez SA, Stokes D (2002) Increased life span of human osteoarthritic chondrocytes by exogenous expression of telomerase. *Arthritis Rheum* 46:683–693
18. Surendran S, Kim SH, Jee BK et al (2006) Anti-apoptotic Bcl-2 gene transfection of human articular chondrocytes protects against nitric oxide-induced apoptosis. *J Bone Joint Surg Br* 88:1660–1665
19. Evans CH, Ghivizzani SC, Robbins PD (2006) Gene therapy for arthritis: what next? *Arthritis Rheum* 54:1714–1729
20. Arai Y, Kubo T, Fushiki S et al (2000) Gene delivery to human chondrocytes by an adeno associated virus vector. *J Rheumatol* 27:979–982
21. Madry H, Cucchiari M, Terwilliger EF et al (2003) Recombinant adeno-associated virus vectors efficiently and persistently transduce chondrocytes in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Hum Gene Ther* 14:393–402
22. Nita I, Ghivizzani SC, Galea-Lauri J et al (1996) Direct gene delivery to synovium. An evaluation of potential vectors in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum* 39:820–828
23. Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD et al (2002) Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther* 9:12–20
24. Chan JM, Villarreal G, Jin WW et al (2002) Intra-articular gene transfer of TNFR:Fc suppresses experimental arthritis with reduced systemic distribution of the gene product. *Mol Ther* 6:727–736
25. Watanabe S, Imagawa T, Boivin GP et al (2000) Adeno-associated virus mediates long-term gene transfer and delivery of chondroprotective IL-4 to murine synovium. *Mol Ther* 2:147–152
26. Ma Y, Thornton S, Duwel LE et al (1998) Inhibition of collagen-induced arthritis in mice by viral IL-10 gene transfer. *J Immunol* 161:1516–1524
27. Tas SW, Adriaansen J, Hajji N et al (2006) Amelioration of arthritis by intraarticular dominant negative I κ B gene therapy using adeno-associated virus type 5. *Hum Gene Ther* 17:821–832
28. Gelse K, Jiang QJ, Aigner T et al (2001) Fibroblast-mediated delivery of growth factor complementary DNA into mouse joints induces chondrogenesis but avoids the disadvantages of direct viral gene transfer. *Arthritis Rheum* 44:1943–1953
29. Goater J, Muller R, Kollias G et al (2000) Empirical advantages of adeno associated viral vectors in vivo gene therapy for arthritis. *J Rheumatol* 27:983–989
30. Hsieh J, Shen PC, Shiau AL et al (2008) Adenovirus-Mediated kallistatin gene transfer ameliorates disease progression in a rat model of osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament transection. *Hum Gene Ther* 11:11
31. Grosse L, Cournil-Henriouet C, Pinzano A et al (2006) Gene transfer with HSP 70 in rat chondrocytes confers cytoprotection in vitro and during experimental osteoarthritis. *Faseb J* 20:65–75
32. Zhang X, Mao ZY C (2004) Suppression of early experimental osteoarthritis by gene transfer of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10. *J Orthop Res* 22:742–750
33. Dai L, Claxson A, Marklund SL et al (2003) Amelioration of antigen-induced arthritis in rats by transfer of extracellular superoxide dismutase and catalase genes. *Gene Ther* 10:550–558
34. Matsumoto T, Cooper GM, Gharaiheb B et al (2009) Cartilage repair in a rat model of osteoarthritis through intraarticular transplantation of muscle-derived stem cells expressing bone morphogenetic protein 4 and soluble flt-1. *Arthritis Rheum* 60:1390–1405
35. Nöth U, Steinert AF, Tuan RS (2008) Technology insight: adult mesenchymal stem cells for osteoarthritis therapy. *Nat Clin Pract Rheumatol* 4:371–380
36. Ryan JM, Barry FP, Murphy JM et al (2005) Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (Lond)* 2:8
37. Richter W (2007) Cell-based cartilage repair: illusion or solution for osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 19:451–456
38. Cheng SL, Lou J, Wright NM et al (2001) In vitro and in vivo induction of bone formation using a recombinant adenoviral vector carrying the human BMP-2 gene. *Calcif Tissue Int* 68:87–94
39. Pagnotto MR, Wang Z, Karpie JC et al (2007) Adeno-associated viral gene transfer of transforming growth factor-beta1 to human mesenchymal stem cells improves cartilage repair. *Gene Ther* 14:804–813
40. Feng G, Wan Y, Balian G et al (2008) Adenovirus-mediated expression of growth and differentiation factor-5 promotes chondrogenesis of adipose stem cells. *Growth Factors* 26:132–142
41. Evans CH, Ghivizzani SC, Oligino TJ et al (2000) Gene therapy for autoimmune disorders. *J Clin Immunol* 20:334–346
42. Mease PJ, Hobbs K, Chalmers A et al (2008) Local delivery of a recombinant adeno-associated vector containing a tumor necrosis factor- α antagonist gene in inflammatory arthritis: a phase 1 dose-escalation safety and tolerability study. *Ann Rheum Dis* 4:4
43. Mease P, Wei N, Fudman E et al (2007) Local treatment for inflammatory arthritis: A phase 1/2 clinical study of intra-articular administration of a recombinant adeno-associated vector containing a TNF- α antagonist. *Arthritis Rheum* 56:793
44. Evans CH, Ghivizzani SC, Robbins PD (2008) Arthritis gene therapy's first death. *Arthritis Res Ther* 10:110