

# Kan lokal tillförsel av rapportgener i cochlean sprida sig till hjärnvävnad? – En säkerhetsaspekt gällande genterapi i innerörat. Ching Huang 2006

## Sammanfattning

Genterapi har visat sig vara en möjlig metod för att behandla inneröron-relaterade hörselskador i framtiden. Det fanns dock tidigare forskningsrapporter som visar att virala vektorer som tillförts hörselsnäckan har spridit sig till hjärnvävnad. Vi undersökte därför om det är möjligt för lentivirus (LV) vektorer att sprida sig från snäckan till hjärnan, och om olika promotorer påverkar spridning och cellstruktur i hjärnan. Elva råttor användes i försöket. Dessa injicerades lokalt i scala tympani med 1 µl LV-GFP ('green fluorescent protein') samt en av fyra olika promotorer: CAG (bestående av cytomegalovirus 'immediate early enhancer' och beta-actinpromotern från kyckling), EF-1α (human 'elongation factor 1alpha'), PGK (human fosfoglyceratkinas 1) and CPPT ('central polypurine tract'). Deras hjärnor inbäddades i 4% paraformaldehyd vid 4°C, och förvarades i -20°C till -70°C i ca 4 månader. Därefter fryssnittades vävnaden i tunna "skivor" om ca 10 µm i tjocklek. Ungefär 300 snitt undersöktes i mikroskop. Stark autofluorescens observerades i många snitt, men GFP, d v s fluorescensmärkt viral vektor, kunde inte detekteras varken i området kring cochleariskärnan (cochlear nucleus), eller i någon annan del av hjärnan i något av proverna. Slutsats: Lokal injektion med 1 µl LV-GFP i scala tympani verkar vara en säker genterapimetod, och risken för att genetiskt material sprider sig från snäckan till hjärnan är mycket liten.

## Does local delivery of reporter gene to the cochlea spread to brain tissue? – A safety aspect of inner ear gene therapy.

### Abstract

Gene therapy in the inner ear has shown a great potential to treat inner ear related hearing disorders in the future. However, several previous studies have shown that viral vectors can spread beyond the target cochlea. In the present study, we investigated the possibility of dissemination of the lentiviral (LV) vectors to the rat brain tissues. Eleven animals were sacrificed one to two weeks after cochleostomy and injection of 1 µl LV-GFP (green fluorescent protein) vectors with different promoters such as CAG (consisting of the cytomegalovirus immediate early enhancer and the chicken beta-actin promoter), EF-1α (the human elongation factor 1alpha), PGK (the human phosphoglycerate kinase 1) and CPPT (the central polypurine tract). The brain tissues were fixed in 4% paraformaldehyde at 4°C, processed for cryosectioning and examined under fluorescence microscope. Intense autofluorescence was observed among many of the sections. The patterns of the fluorescent signals with red and green filters were compared to identify the GFP signals in the brain tissue. GFP reporter gene expression was not detected in any examined brain regions in each animal. *Conclusion:* These results suggest that local injection of 1 µl LV-GFP into rat scala tympani is a safe method for gene therapy in the cochlea, with low risk for

lentiviral vector dissemination into the surrounding brain tissue.