

Hämatopoetische Stammzellen aus Nabelschnurblut



Dr. Christine Günther



Dr. Hans Knabe

Hämatopoetische Stammzellen aus Nabelschnurblut (umbilical cord blood, UCB) werden zunehmend als alternative Quelle zur Stammzelltransplantation (SCT) bei malignen und nichtmalignen Erkrankungen eingesetzt.

Gewinnung und Indikation

Das unmittelbar nach der Geburt durch Punktion der Nabelschnurvene gefahrlos für Mutter und Kind gewonnene UCB ist reich an hämatopoetischen Vorläuferzellen. Es handelt sich dabei nicht um so genannte embryonale Stammzellen, sondern um determinierte hämatopoetische Stammzellen, die neben Blutstammzellen aus dem Knochenmark und peripherem Blut zunehmend auch für Erwachsene als Transplantat zum Einsatz kommen. Die Indikationen zur Transplantation mit Nabelschnurblutstammzellen entsprechen im Wesentlichen denen der Transplantation von adulten Stammzellen: akute und chronische Leukämien (ALL, AML, CML), aplastische Anämien (SAA), myelodysplastische Syndrome (MDS), aber auch schwere Immundefektsyndrome (SCID) und einige angeborene Stoffwechselerkrankungen (zum Beispiel Hurler-Syndrom) sowie Hämoglobinopathien (zum Beispiel Thalassämien).

Seitdem 1988 ein sechsjähriges Kind mit Fanconi-Anämie erfolgreich mit den Nabelschnurblutstammzellen¹ seines Geschwisters transplantiert wurde, ist das Interesse und die Anwendung kontinuierlich gestiegen. Inzwischen stehen weltweit ca. 70 000 Präparate zur Verfügung. Mehr als 1500 Patienten, darunter zunehmend Erwachsene, wurden bisher weltweit transplantiert.

In Kooperation mit der 1. Frauenklinik der LMU München in der Maiastraße, der Frauenklinik des Bayerischen Roten Kreuzes in München, dem Klinikum Augsburg und dem Klinikum Deggendorf werden die benötigten Nabelschnurblutspenden gewonnen. Die Ein- und Ausschlusskriterien entsprechen den Richtlinien für Blutspender. Nach der Geburt wird die Nabelschnurblutvene steril punktiert und das Blut (ca. 70 bis 120 ml) in einem sterilen

Beutel gesammelt. Gleichzeitig werden Blutproben der Mutter für die Bestimmung der Infektionsmarker gewonnen. Das Nabelschnurpräparat wird zeitnah unter Reinraumbedingungen nach GMP (good manufacturing practice/EU-Richtlinien) verarbeitet. Neben den gesetzlich vorgeschriebenen Infektionsmarkern werden die Blutgruppe, Sterilkontrollen und die HLA-Antigene (HLA-A, B, C und DRB1) untersucht. Zusätzlich erfolgt eine morphologische und immunologische Bestimmung der verschiedenen Zellpopulationen (vor allem CD 34+ -Stammzellen). Nach Erythrozyten- und Plasmade-

pletion werden die Zellkonzentrate in flüssigem Stickstoff (-196 °C) zunächst in Quarantäne gelagert, bis alle geforderten Qualitätskriterien erfüllt sind. Nach der Freigabe werden die Präparate an das weltweite Register gemeldet und stehen damit allen Patienten zur Verfügung (ungerichtete Spende). Kosten entstehen für die Mutter und die entnehmende Klinik nicht.

Liegt bei einem Kind eine Erkrankung vor, die mittels Stammzelltransplantation geheilt werden kann, sollte bei erneuter Schwangerschaft der Mutter die gerichtete Spende in Absprache mit der Aktion Knochenmarkspende Bayern e. V. (AKB) geplant werden, da die Entbindung möglichst in einer der genannten Entbindungskliniken stattfinden sollte. Bei ausreichender Zellzahl und HLA-Übereinstimmung ist das Präparat möglicherweise eine wichtige alternative Stammzellquelle.



Fertiges Zellkonzentrat aus Nabelschnurblut vor Kryokonservierung.



Probenziehung aus abgetrennten Erythrozyten und Plasma aus Nabelschnurblut.

Erste Erfahrungen

Vor drei Jahren wurde in der Kinderklinik und Poliklinik der LMU München im Dr. von Haunerschen Kinderspital ein fünf Jahre alter Junge mit ALL als erstes Kind in Bayern erfolgreich mit Nabelschnurstammzellen seines Bruders transplantiert (gerichtete Spende)⁴. Bei vollständiger Übereinstimmung der Gewebemerkmale konnte weder eine behandlungsbedürftige Abwehrreaktion noch eine schwere Infektion beobachtet werden. Zusätzlich wurden drei unverwandte Präparate vermittelt; bei dem ersten Patienten (Erwachsener) verlief die Transplantation erfolgreich, der zweite Patient verstarb an einer schweren Abwehrreaktion. Die dritte Transplantation steht unmittelbar bevor.

Autologe Lagerung

Diese für die Eltern kostenintensive Möglichkeit der Lagerung wird von kommerziellen Anbietern propagiert. Dabei wird nicht erwähnt, dass Stammzellen aus UCB nach einer Chemotherapie bei soliden Tumoren überflüssig sind, da jederzeit vom Patienten selbst Stammzellen in ausreichender Zahl gewonnen werden können. Bei malignen Blut-

erkrankungen würden autologe Stammzellen aus UCB ebenfalls nicht eingesetzt, da gezeigt werden konnte, dass in diesen Zellen bereits die Anlage zur späteren Erkrankung vorhanden sein kann. Da die Anzüchtung von anderen Geweben (tissue engineering) aus Nabelschnurblut ebenfalls noch als rein experimentell einzustufen ist, gibt es nach derzeitigem Wissensstand keine gesicherte Indikation für die autologe Einlagerung.

Klinische Ergebnisse und biologische Besonderheiten der Transplantation mit UCB

Europäische und amerikanische Ergebnisse^{2,3,5} belegen die Effektivität der Transplantation bei Kindern und zunehmend Erwachsenen sowie die biologischen Besonderheiten der Nabelschnurstammzelltransplantation. Aufgrund der wenig aktivierten T-Zellen im Nabelschnurpräparat ließ sich übereinstimmend eine geringere Rate an schweren akuten und chronischen Transplantatreaktionen nachweisen (graft-versus-host-disease – GvHD). Dies ist umso bemerkenswerter, da auch HLA-Differenzen (bis zwei Antigene mismatch) wenig Einfluss auf die Rate an GvHD zu haben scheinen im

Gegensatz zur konventionellen Stammzelltransplantation. Der entscheidende Unterschied zu anderen Stammzellquellen ist die längere Dauer bis zum Anwachsen des Transplantates, messbar am Neutrophilen- und Thrombozytenanstieg. Damit verbunden ist auch eine höhere Rate an Transplantatversagen bzw. Abstoßung vor allem bei Erkrankungen wie der chronischen myeloischen Leukämie (CML) und der schweren aplastischen Anämie (SAA). Die übertragene Zellzahl (gemessen an nukleären Zellen und CD34+ Zellen) scheint der wichtigste Faktor für schnelles Engraftment auch über HLA-Differenzen zu sein. Die Zahl an nukleären Zellen liegt dabei um eine log-Stufe geringer als bei konventioneller Stammzelltransplantation. Als Mindestanzahl wird gegenwärtig die Zahl von $1.7 - 2 \times 10^7$ NC/kg Körpergewicht angegeben. Damit kann ein durchschnittliches Nabelschnurpräparat durchaus für einen normalgewichtigen Erwachsenen in Frage kommen. Die im Nabelschnurtransplantat enthaltenen Vorläuferzellen haben eine höhere Expansionsfähigkeit. In Bezug auf die Immunrestitution sind UCB und SCT vergleichbar. Die Rückfallrate der Grunderkrankung ist zumindest bei Kindern nicht deutlich höher als bei SCT; auch das Gesamtüberleben scheint vergleichbar zu sein.



Anlage zur computergeleiteten Kryokonservierung von Stammzellen.



Spezialbehälter zur Lagerung von Stammzellen in Flüssigstickstoff.

Stammzellpräparate aus UCB sind sofort verfügbar, vermutlich sehr lange haltbar und haben ein deutlich geringeres Risiko für die Übertragung von Infektionserregern. Ein Nachteil ist der teilweise geringe Zellgehalt, der eine Anwendung beim Erwachsenen sowie eine Rezidivtherapie unmöglich machen kann.

Zum anderen unterliegt die Herstellung von Stammzellen aus UCB dem Arzneimittelrecht⁶ und erfordert einen hohen technischen (zum Beispiel Reinraum und Lager nach GMP) und personellen Aufwand, den nur wenige Institutionen betreiben können. In Bayern hat die AKB als erste eine solche Bank aufgebaut.

Die Aktion Knochenmarkspende Bayern e. V.

Die Transplantation von adulten hämatopoetischen Stammzellen war zunächst den Patienten vorbehalten, für die sich ein gewebeverträglicher Spender im Kreis der Familie finden ließ (nur etwa 25 % aller Patienten).

Erst der weltweite Aufbau von Dateien freiwilliger, unverwandter Spender (derzeit etwa acht Millionen) ermöglichte diese lebensrettende Therapie für den weitaus größten Teil der betroffenen Patienten.

Die AKB wurde 1993 in München gegründet. Sie ist heute mit mehr als 170 000 registrierten Spendern die drittgrößte Datei in Deutschland. Jährlich werden mehr Transplantate weltweit vermittelt (im Jahr 2003 vermutlich mehr als 120 Vermittlungen). Die AKB beschränkt sich mit der Gewinnung der Spender auf Bayern, um eine möglichst heimatnahe Spenderbetreuung zu ermöglichen. Alle Spenden stehen jedoch weltweit zur Verfügung. Dies gilt ebenso für die inzwischen 850 freigegebenen Stammzellpräparate aus UCB. Geplant ist, den Bestand auf etwa 3000 bis 5000 Präparate auszuweiten.

Die Spendergewinnung und Erstregistrierung

Das gemeinsame Prinzip aller Dateien ist die Information und Sensibilisierung der Öffentlichkeit für dieses Thema. Bei der Aufnahme im Rahmen öffentlicher Spendetermine erfolgt die Einholung einer Einverständniserklärung sowie die Bestimmung eines Teils der Gewebemerkmale (HLA-AB). Die Spenderauswahl unterliegt den gesetzlich vorgegebenen Kriterien.

Das Confirmatory Typing (Bestätigungstestung)

Zur Identitätssicherung wird unmittelbar vor jeder Spende eine vollständige HLA-Typisierung von Patient und Spender aus frischem Material durchgeführt.

Weitere Kriterien neben der HLA-Identität und dem Antikörperstatus für Zytomegalievirus (CMV) sind die Anzahl eventuell erhaltener Transfusionen, Schwangerschaften sowie Geschlecht und Alter des Spenders, falls überhaupt mehr als ein kompatibler Stammzell-Spender vorhanden ist.



Zellseparator zur Stammzellgewinnung nach Stimulation.

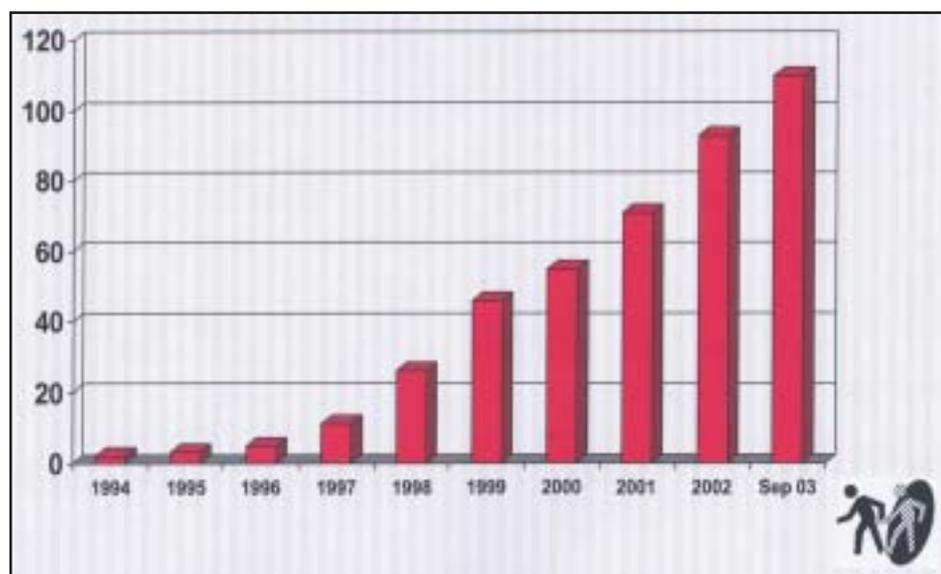
Spendercheck und Stammzell-Spende

Im Rahmen des Spenderchecks wird der Spender ausführlich beraten und untersucht (Labordiagnostik/Röntgen/EKG/Sono usw.)

Es gibt zwei Spendemöglichkeiten: durch mehrfache Punktion des hinteren Beckenkammes in Vollnarkose oder durch Mobilisation der Zellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut mit Hilfe eines Wachstumsfaktors (G-CSF) und anschließender Sammlung der Stammzellen mit einem Zellseparator.

Suchzentrum

Als Dienstleistung für die wichtigsten Transplantationszentren in Bayern wurde das Bayerische Spendersuchzentrum gegründet. Dessen Aufgabe ist es, für Patienten ohne einen verwandten Spender die weltweite Suche einzuleiten und möglichst rasch den optimal passenden Spender zu identifizieren. Dabei hat die Erfolgsquote heute bei etwa 80 % der Suche ein Plateau erreicht.



Entwicklung der Vermittlung von Stammzelltransplantaten.

Für alle Patienten, für die sich kein kompatibler Spender finden lässt, gilt es daher, alternative Wege wie die haploidente Transplantation von Verwandten bzw. die Verwendung von Stammzellen aus Nabelschnurblut zu entwickeln.

Literatur:

- 1 Gluckman, E./Broxmeyer, H. A./Auerbach, A. D. et al.: Hematopoietic Reconstitution in a Patient with Fanconi's Anemia by Means of Umbilical Cord Blood from an HLA-identical Sibling. *N Engl J Med.* 1989, 321: 1174-1178.
- 2 Gluckman, E.: Hematopoietic Stem Cell Transplants Using Umbilical-cord Blood. *N Engl J Med.* 2001, 344: 1860-1861.
- 3 Wagner, J. E./Barker, J. N./DeFor, T. E. et al.: Transplantation of Unrelated Donor Umbilical Cord Blood in 102 Pats with Malignant and Non-malignant Diseases. *Blood* 2002, 100: 1611-1618.
- 4 Guenther, C./Führer, M./Brandl, M./Hahn, U./Bender-Goetze, C./Knabe, H.: Successful Related Cord Blood Transplantation for High Risk ALL in a 5-year Old Boy (abstract). *Onkologie* 2002, 25: 94.
- 5 Grewal, S./Barker, J./Davies, S./Wagner, J. E.: Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation: Marrow or Umbilical Cord Blood? *Blood* 2003, 101: 4233-4244.
- 6 Richtlinien zur Transplantation von Stammzellen aus Nabelschnurblut. In: *Deutsches Ärzteblatt* 1999, 96: 1010-1016.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Christine Günther, Dr. Hans Knabe, beide Aktion Knochenmarkspende Bayern e. V., Robert-Koch-Allee 7, 82131 Gauting, Telefon 089 89326617, Fax 089 89326629 E-Mail: info@knochenmarkspende.de Internet: www.knochenmarkspende.de

Kontaktadresse:

Dr. Monika Fübner, Oberärztin, Station für Knochenmark- und Stammzelltransplantation, Kinderklinik und Poliklinik der LMU München im Dr. von Haunerschen Kinderspital, Lindwurmstraße 4, 80337 München, Tel. 089 5160-2852, E-Mail: Monika.Fuehrer@helios.med.uni-muenchen.de