

Thomas Able

Dr. med.

Optimierung der Knochenmarkentnahme und Überexpression des Onkoproteins Stathmin in G-CSF stimulierten hämatopoetischen Stammzellen

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Anthony D. Ho

Die Gewinnung humaner hämatopoetischer Stammzellen (HSZ) ist die Voraussetzung für eine Stammzelltransplantation, die seit den 1970er Jahren eine Hochdosis-Chemotherapie überhaupt ermöglichte und mittlerweile eine Säule in der hämatologisch-onkologischen Therapie darstellt. Ein hoher Stammzellgehalt und eine exzellente Qualität des gewonnenen Knochenmarktransplantates sind hierbei essentielle Voraussetzungen für ein erfolgreiches Ergebnis einer allogenen Knochenmarktransplantation. Quellen für HSZ sind einerseits das Knochenmark mittels Aspiration und andererseits mobilisierte hämatopoetische Stammzellen mittels Zytapherese. Die pharmazeutische Entwicklung von G-CSF Präparaten und die Gewinnung von peripheren Blutstammzellen führte zu ersten allogenen Blutstammzelltransplantation in Deutschland im Jahr 1994. Bereits 1998 wurden annähernd gleich viele Knochenmarkentnahmen (KME) (550) wie Stammzellapheresen in Deutschland durchgeführt.

Bei den möglichen unerwünschten Wirkungen sind im Rahmen der Spendersicherheit nicht nur akute Reaktionen im Rahmen der G-CSF-Gabe und der der Zytapherese, sondern auch potentielle Langzeitrisiken wie z.B. die Entwicklung einer Leukämie zu beachten.

Wir konnten im Rahmen einer retrospektiven Studie zeigen, dass mit einem Punktionssystem mit fünf zusätzlichen Seitenöffnungen, im Vergleich zu einer Nadel mit nur einer Öffnung, die Zeit der KME auf durchschnittlich 12 Minuten halbiert werden konnte. Es wurde eine vergleichbar hohe Qualität des gewonnenen KM-Präparates durch beide Entnahmesysteme erzielt. Es kam zu keiner lebensbedrohenden Komplikation oder zu sogenannten „schweren

ungünstigen Ereignissen“. Alle Spender konnten noch am selben Tag nach entsprechender Nachbeobachtung, in der Regel vier Stunden, das Krankenhaus verlassen. Eine KME ist somit eine sichere Prozedur und kann bei gesunden erwachsenen Spendern in der Regel unter ambulanten Bedingungen durchgeführt werden. Die Zytapherese ist auch eine ambulante Maßnahme, hier muss aber bei jedem dritten Spender am darauffolgenden Tag eine zweite Zytapherese erfolgen, um eine genügende Stammzellzahl für den Empfänger zu erreichen.

Der genaue Mechanismus der Mobilisierung von HSZ unter G-CSF aus dem Knochenmark in das periphere Blut beim Menschen ist weitgehend noch nicht verstanden. Die Internalisation des G-CSF Rezeptors wurde *in vitro* und *in vivo* in dieser Arbeit an humanen Zellen nachgewiesen.

Wir konnten in dieser Arbeit zum ersten Mal zeigen, dass das Gesamtprotein im Proteom gesunder, mobilisierter Peripherblutstammzellen im Vergleich zu HSZ aus Knochenmark sich annähernd verdoppelt und ein Onkoprotein überexprimiert ist und in aktivierter Form vorliegt. Dieses Onkoprotein, Stathmin (Oncoprotein 18) ist ein zytosolisches Phosphoprotein, welches eine Schlüsselstellung der Regulation der Dynamik von Mikrotubuli hat. Bisher war dieses Onkoprotein beim Menschen nur in hoher Konzentration in gesunden Nervenzellen und für maligne Zellen solider Tumore und hämatologischer Erkrankungen wie akute Leukämien und Lymphome beschrieben. Der Nachweis des dephosphorylierten Onkoproteins in seiner aktiven Form erfolgte in unabhängigen Methoden, immunchemisch und massenspektroskopisch. Die Überexpression von aktiviertem Stathmin spielt somit eine Schlüsselrolle in der aktiven Motilität der mobilisierten Stammzellen, welche in Zellkultur experimentell in Zeitraffer im Rahmen einer anderen Arbeit unserer Arbeitsgruppe, visuell aufgezeichnet wurde.