

Patrick Hundsdörfer

Dr. med.

## **Die Rolle Stroma-assoziiierter Faktoren bei der Expansion hämatopoetischer Stammzellen**

Geboren am 02.04.1971 in Bonn

Reifeprüfung am 09.06.1990 in Bonn

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis SS 1998

Physikum am 24.03.1993 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg und Zürich

Staatsexamen am 13.5.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. med. W. J. Zeller

Hämatopoetische Stammzellen werden ins periphere Blut mobilisiert und durch eine Leukapherese separiert, um durch Reinfusion die häufigste Nebenwirkung der meisten Zytostatika, die Myelotoxizität, zu mindern. Mobilisierte Blutvorläuferzellen bewirken nach Transplantation in einem mittels zytotoxischer Therapie konditioniertem Empfänger eine Wiederherstellung der Blutbildung in etwa 14 Tagen. Ziel dieser Untersuchungen war es, zum einen durch Depletion von kontaminierenden Tumorzellen, zum anderen durch Beschleunigung der Kurzzeitrekstitution bei Wahrung der Langzeitrekstitution, die Qualität des Transplantates zu verbessern.

Tumorzellen, die das Transplantat kontaminieren, können entfernt werden, indem man die Tumorzellen direkt entfernt oder die das CD34 -Antigen exprimierende Stammzellpopulation isoliert. Es wurde untersucht, ob durch die Kombination dieser beiden Verfahren bei Non-Hodgkin-Lymphomen eine höhere Lymphomzelldepletion erzielt werden kann, als mit CD34<sup>+</sup> -Selektionsverfahren allein. Die Kombination von immunomagnetischer B-Zell-Depletion mit CD34<sup>+</sup> -Selektion mittels Biotin-Avidin-Immunoabsorption führte zu einer signifikant ( $p < 0,02$ ) höheren Lymphomzelldepletion gegenüber alleiniger CD34<sup>+</sup> -Selektion ( $\log 4,32 \pm \log$

0,15 vs.  $\log 3,02 \pm \log 0,30$ ), während dies für die Kombination von B-Zell Depletion und immunomagnetischer CD34<sup>+</sup>-Selektion nicht beobachtet wurde.

Die Reifung und Differenzierung menschlicher Stammzellen kann durch *In-vitro*-Kultur unter Zusatz humaner Zytokine induziert werden. Mit solcherart vorgereiften Stammzellen versucht man die Rekonstitutionszeit zu verkürzen. Um die terminale Differenzierung der Stammzellen während der *In-vitro*-Kultur zu vermeiden und deren Potential zur Langzeitrekonstitution zu bewahren, erscheint für die *In-vitro*-Kultur eine Kombination von proliferationsstimulierenden und -inhibierenden Zytokinen wie Interleukin-3 (IL-3) und *Macrophage inflammatory protein-1a* (MIP-1 $\alpha$ ) geeignet. Es wurde untersucht, ob durch Zusatz durch Knochenmarkstroma konditionierten Mediums die Zahl der Zellen mit Langzeitrekonstitutionscharakteristika gegenüber nur in IL-3 und MIP-1 $\alpha$  kultivierten oder nativen Zellen erhöht werden kann.

Zunächst wurde der CAFC-Assay, durch den die Frequenz der Zellen mit Kurz- und Langzeitrekonstitutionscharakteristika in einer Zellpopulation ermittelt werden kann, durch den Vergleich mit Rekonstitutionsdaten von Patienten validiert. Es wurde eine inverse Korrelation ( $p=0,026$ ) zwischen der Anzahl der transplantierten CAFC-Woche-2-Zellen und der Zeit bis zum Wiederanstieg der Thrombozytenwerte im Menschen, die als Marker für die hämatopoetische Rekonstitution *in vivo* gilt, gezeigt. Damit können CAFC-Ergebnisse von Stammzellpopulationen nach Flüssigkultur in Stroma-konditioniertem Medium als Parameter für die Beurteilung der Rekonstitutionsfähigkeit des Transplantates dienen.

Im Verlauf der 7-tägigen Kultur CD34<sup>+</sup>-selektierter Zellen in IL-3, MIP-1 $\alpha$  und FBMD-1 konditioniertem Medium wurde ein Abfall phänotypisch primitiver Stammzellen (CD34-hochexprimierende Zellen, CD34<sup>+</sup>/CDw90<sup>+</sup>-Zellen) beobachtet. Die funktionelle Analyse im CAFC -Assay zeigte jedoch sowohl eine Proliferation der Zellen mit Kurz- als auch der mit Langrekonstitutionscharakteristika. Zukünftige Transplantationsstudien sollten zeigen, ob *in vivo* durch Transplantation solcherart stimulierter Stammzellen eine Verkürzung der Rekonstitutionszeit bei Wahrung der Langzeitrekonstitution erreicht werden kann, wie durch die Ergebnisse dieser Arbeit nahegelegt wird.