

Eike Christian Buß

Dr. med.

Die Rolle stromaassoziierter Faktoren bei der retroviralen Transduktion hämatopoetischer Stammzellen mit dem humanen *MDR1*-Gen

Geboren am 31.07.1974 in Heidelberg

Reifeprüfung am 26.06.1993 in Ludwigshafen a. Rh.

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis SS 2001

Physikum 19.03.1996 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg und Manchester, England

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 03.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

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

Vorläuferzellen des peripheren Blutes sind ein bevorzugtes Ziel der Genterapie. Da viele Daten darauf hindeuten, dass löslichen Stromafaktoren eine besondere Bedeutung bei der Transduktion von Vorläuferzellen zukommt, wurden in der vorliegenden Arbeit das stromakonditionierte Medium (SCM) der zwei Zelllinien FBMD-1 und L88/5 und desulfatiertes und O-sulfatiertes Heparin (HS dS und HS OS) auf ihren jeweiligen Einfluss auf die Transduktion peripherer Blutvorläuferzellen untersucht. Wir transduzierten CD34⁺-Zellen von neun Tumorpatienten mit dem retroviralen SF-MDR-Vektor, der das humane *Multidrug-resistance-1* (*MDR1*)-Gen enthält. Es wurde mit serumfreiem Medium auf dem Fibronektinfragment CH-296 mit oder ohne Zusatz von SCM transduziert. Eine proviruspezifische Polymerasekettenreaktion zeigte im Median eine 1,6-fach höhere Integrationsrate des Transgens in determinierte Vorläuferzellen in der Gruppe mit Zusatz von FBMD-1-SCM ($p = 0,008$). Dies wurde nach zwei Wochen ($p = 0,02$) und als Trend nach fünf Wochen stromaabhängiger Langzeitkultur aufrechterhalten. Wir fanden im Median einen 1,5-fachen Anstieg des Rh-123-Effluxes in myeloiden liniendeterminierten Zellen nach Transduktion unter Zusatz von FBMD-1-SCM ($p = 0,0004$). Nach zwei ($p = 0,003$) und fünf ($p = 0,04$) Wochen Langzeitkultur konnte immer noch ein signifikant höherer Anteil von Rh-

123^{dull}-Zellen in der FBMD-1-Transduktionsgruppe entdeckt werden. L88/5-SCM, HS dS und HS OS brachten als Zusätze bei der Transduktion hämatopoetischer Vorläuferzellen keine verbesserte Transduktion. Die FBMD-1-Stromazelllinie scheint offenbar eine einzigartige Substanz auszuschütten, die die retrovirale Transduktion liniendeterminierter und primitiver Vorläuferzellen verbessert. Diese Aktivität kann offenbar nicht auf Heparansulfate zurückgeführt werden.