

Farastuk Bozorgmehr
Dr. med.

Einfluss des *Multidrug Resistance 1*-Gentransfers auf die Langzeithämatopoese in nicht-humanen Primaten

Geboren am 21.03.1979 in Abadan, Iran
Staatsexamen am 15.12.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Frühauf

Ein Gentransfer mit dem Resistenzgen *Multidrug Resistance 1 (MDR1)* kann hämatopoetische Vorläuferzellen vor der toxischen Wirkung von Zytostatika schützen und eine Myelosuppression verhindern. In Studien mit retroviral *MDR1*-transduzierten Mäusen traten jedoch myeloproliferative Syndrome auf. In den früheren klinischen Studien war keine solche Nebenwirkung für eine *MDR1*-Gentherapie beobachtet worden. Es war jedoch unklar, ob dies an der geringen Patientenzahl oder an einer zu kurzen Beobachtungsdauer lag, oder ob diese Nebenwirkung in der Mausbiologie begründet war. Um ein Modell mit mehr Relevanz für die humane Biologie zu entwickeln, wurden in einer vorhergehenden Arbeit CD34⁺-Vorläuferzellen von Rhesus-Makaken mit einem retroviralen *MDR1*-Gen tragenden Vektor (HaMDR1) und einem Neomycin-Resistenzgen (*NeoR*) tragenden Kontrollvektor (G1Na) transduziert und jeweils beide transduzierten Zelltypen den Tieren transplantiert. Die DNA der aus diesen Vorläuferzellen hervorgegangenen reifen Zellen wurde mit den in der vorliegenden Arbeit etablierten Methoden analysiert. Es konnten insgesamt 122 an der Hämatopoese beteiligte Klone von acht Wochen bis vier Jahren nach Transplantation detektiert werden. Während 102 Klone von G1Na-Vektor transduzierten Vorläuferzellen abstammen, entstammen nur 20 Klone aus HaMDR1-transduzierten Vorläuferzellen. Die quantitative Untersuchung ergab einen konstanten Beitrag HaMDR1-transduzierter Zellen zur Hämatopoese mit ca. 1%. Der Beitrag G1Na-transduzierter Zellen war zunächst höher, fiel im Laufe der vier Jahre jedoch ebenfalls auf 1%. Einzelne quantifizierte Klone trugen mit $0,0013\% \pm 0,0003\%$ bis $0,26\% \pm 0,03\%$ zur Gesamthämatopoese bei. Die Integrationsanalyse ergab Integrationen u.a. in Protoonkogenen einschließlich *Evi1*, ohne die Folge einer klonalen Dominanz. Es konnte kein abnormer Anstieg vektorpositiver DNA in den quantitativen Untersuchungen festgestellt werden.

Mit dieser Studie konnte somit gezeigt werden, dass HaMDR1- und G1Na-transduzierte CD34⁺-Vorläuferzellen über einen langen Zeitraum auf einem stabilen Niveau zur Hämatopoese ohne das Auftreten klonaler Dominanzen beitragen. Integrationen in Onkogenen führten nicht zu einer leukämischen Proliferation transduzierter Zellen in dem Beobachtungszeitraum von vier Jahren. Erstmals konnten die Beiträge einzelner Klone zur Langzeithämatopoese gemessen werden. Zukünftige Studien können nun mit Hilfe der in dieser Arbeit etablierten Methoden die Dynamik von Klonen über einen längeren Zeitraum messen und neue Einblicke in das hämatopoetische Verhalten von Blutstammzellen geben. Zusätzlich ist nun ein Echtzeit-Monitoring von potenziell onkogenen Integrationen in klinischen Studien möglich. Dadurch kann eine beginnende Expansion eines Klons frühzeitig festgestellt und somit eine sich entwickelnde Leukämie noch vor Auftreten von klinischen Symptomen diagnostiziert werden. Die Implementierung dieser Methoden kann zukünftig die Sicherheit in gentherapeutischen Studien erhöhen.