

Timon Seeger  
Dr.med.

## **Charakterisierung der Blutstammzellmobilisierung durch den CXCR4-Antagonisten AMD3100 in Kombination mit und im Vergleich zu G-CSF.**

Geboren am 06.08.1979 in Wetzlar  
Staatsexamen am 04.12.2006 an der Universität Heidelberg

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

Der CXCR4-Antagonist AMD3100 ist eine viel versprechende Substanz zur Mobilisierung von Blutstammzellen und für eine Optimierung des Standardmobilisierungsregimes mit G-CSF und nachfolgender Blutstammzelltransplantation. Die Substanz bietet die Möglichkeit der Freisetzung anderer Blutstammzellsubsets aus dem Knochenmark in das periphere Blut.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden 15 Patienten der AMD3100-Mobilisierungsstudie an der Medizinischen Klinik V der Universität Heidelberg bezüglich des Mobilisierungsverhaltens, der Blutstammzellkomposition, unterschiedlichen Eigenschaften der mobilisierten Blutstammzellen und der hämatologischen Rekonstitution nach Transplantation sowie der Langzeitrepopulation ausgewertet. Dazu wurden vor dem Hintergrund des zu G-CSF unterschiedlichen Mechanismus der Mobilisierung durch AMD3100 intraindividuelle Vergleiche zwischen G-CSF(G)- und G-CSF+AMD3100(G+A)-mobilisierten Blutstammzellen zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt. Dabei wurde jeweils die aufgereinigte Population CD34<sup>+</sup> Blutstammzellen nach phänotypischen, funktionellen und genexpressionsregulatorischen Charakteristika analysiert.

In durchflusszytometrischen Analysen zeigte sich eine gesteigerte Mobilisierung sehr primitiver Blutstammzellen mit dem Phänotyp CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup> nach G+A im Vergleich zu G alleine. In Hinblick auf die Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle war nach G+A eine signifikant erhöhte Expression von CD44 und CD49b im Vergleich zu G alleine zu beobachten, was auf einen günstigen Phänotyp für eine Repopulation des Knochenmarks schließen lässt. In den genomweiten Genexpressionsanalysen mittels Microarray-Technik fanden sich Zellzyklus-aktivierende und Apoptose-hemmende Gene nach G+A heraufreguliert. Die mit G+A mobilisierten Blutstammzellen ähneln in ihrem Aktivitätszustand eher Blutstammzellen, welche im Knochenmark residieren. Ebenfalls konnten Gene innerhalb des CXCR4-Signaltransduktionswegs sowie CXCR4 selbst nach G+A vs. G unterschiedlich reguliert beobachtet werden. Die Ergebnisse der Microarrayuntersuchungen konnten mit Hilfe von QRT-PCR-Analysen methodisch validiert

und in einer weiteren Subpopulation der Patienten reproduziert werden. So bestätigte sich die signifikant gesteigerte Expression von CXCR4 auf mRNA-Ebene, was auf eine erhöhte Migrationsfähigkeit G+A mobilisierter Zellen hindeutet. In Langzeitkulturen (LTC-IC-Assays) ließ sich zudem der Anstieg der Mobilisierung sehr primitiver Blutstammzellen mit der Fähigkeit zur Proliferation und zum Ursprung hämatologischer Populationen nach zusätzlicher AMD3100-Gabe zu einem G-CSF-Mobilisierungsregime verifizieren. Bei Betrachtung der klinischen Daten nach Transplantation G+A mobilisierter Blutstammzellen konnten die Beobachtungen der verschiedenen phänotypischen und funktionellen *In-vitro*-Untersuchungen nachvollzogen werden. Alle beobachteten Patienten erreichten eine schnelle hämatologische Kurzzeit-Rekonstitution. Die mit G+A mobilisierten Blutstammzellen führten darüber hinaus zu einer stabilen Langzeit-Hämatopoese.

AMD3100 wird zurzeit in Phase-III-Studien getestet. Damit steht AMD3100 (Plerixafor, Mozobil®, Genzyme) kurz vor der Zulassung für die Anwendung bei Mobilisierung von Blutstammzellen im Rahmen autologer Transplantationen. Die in dieser Dissertation gefundene Zunahme immunphänotypisch und funktionell primitiver Blutstammzellen nach AMD3100-Zugabe sowie die Unterschiede auf der Ebene der Genexpression im Vergleich zu nur mit G-CSF-mobilisierten Blutstammzellen können zu einer Optimierung der autologen Blutstammzelltransplantation beitragen. Durch das hohe Potential dieser verstärkt mobilisierten primitiven Blutstammzellpopulation für eine schnelle Rekonstitution sowie anhaltende Repopulation des Knochenmarks könnte die Minimaldosis zu transplantierender CD34<sup>+</sup> Blutstammzellen im Rahmen des Transplantationsregimes gesenkt werden. Vor allem Patienten mit zu erwartendem eingeschränktem Mobilisierungsverhalten könnten durch Ergänzung des Mobilisierungsschemas um AMD3100 auch einer Hochdosistherapie zugeführt werden.