

Dirk Nierhoff

Dr. med.

Mikrochimärismus hämatopoetischer Stammzellen nach orthotoper Lebertransplantation

Geboren am 03.07.1974 in Mülheim an der Ruhr

Reifeprüfung am 24.05.1994 in Mülheim an der Ruhr

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis WS 2001/02

Physikum am 08.09.1997 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg und Lyon

Staatsexamen am 02.05.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. R. Haas

Immunologische Toleranz ist für die stabile Akzeptanz eines transplantierten Organes notwendig. Die Induktion einer spenderspezifischen Toleranz könnte helfen, die unspezifische pharmakologische Immunsuppression und ihre Nebenwirkungen zu reduzieren. Lymphoide und dendritische Zellen des Organspenders können auch nach langer Zeit im Empfänger in geringen Mengen nachgewiesen werden, ein Phänomen, das als Mikrochimärismus bezeichnet wird. Dieses Phänomen könnte eine Rolle bei der Toleranzinduktion spielen. Das Schicksal von Zellen anderer hämatopoetischer Linien ist weitgehend unbekannt. In dieser Arbeit zeigen wir zum ersten Mal, dass menschliche hämatopoetische Stammzellen mit einer Lebertransplantation transferiert werden. Zu diesem Zweck untersuchten wir peripheres Blut und Knochenmarkproben von 14 Patienten, die das Lebertransplantat von einem HLA-DR-differenten Spender erhalten hatten. 9 Patienten waren Langzeitüberlebende zwischen 2,8 und 10,1 Jahren (Median 5 Jahre) nach Transplantation. 5 Patienten wurden von uns im Rahmen einer Verlaufsstudie vor und 2 - 4 Monate nach Lebertransplantation untersucht. CD34-positive Zellen wurden aus dem Knochenmark mit Hilfe einer immunomagnetischen Separation, gefolgt von einer fluoreszenz-aktivierten Zellsortierung, angereichert. Wir erhielten Reinheiten >99,5%. Eine genestete PCR-Methode diente der Detektion von

Spenderzellen. Sie basiert auf allelischen Differenzen im 2. Exon des HLA-DRB1-Gens. Eine Amplifikation des DRB1-Gens durch generische Konsensus-Primer wurde von einer zweiten PCR mit sequenzspezifischen Primern (SSP-PCR) gefolgt. In den Experimenten wurden Kontrollen eingeschlossen, bei denen DNA-Proben von normalen Blutspendern mit DRB1-Spezifitäten des Spenders und des Empfängers gemischt wurden, um falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse sowie eine reduzierte Effizienz der Amplifikation von HLA-DRB1-Loci kontrollieren zu können. Spenderspezifische DRB1-Sequenzen fanden wir bei 8 von 9 Langzeit-Patienten: Bei 6 von 9 Patienten im peripheren Blut, bei 5 von 8 langzeitüberlebenden Empfängern in den CD34-positiven Zellen des Knochenmarkes. Mikrochimärismus in der CD34-positiven Zellfraktion war bei 3 Patienten mit Mikrochimärismus im Blut assoziiert, während 2 der CD34-chimären Patienten keine Spenderzellen im Blut aufwiesen. Wir fanden keine auffällige Assoziation zwischen Mikrochimärismus und Abstoßungsepisoden. In der Verlaufsstudie konnte bei einem Patienten der Nachweis von Mikrochimärismus in den CD34-positiven Stammzellen und im peripheren Blut geführt werden. Zwei weitere Patienten wiesen keinen Mikrochimärismus auf, bei einem Patienten war der Chimärismus nicht analysierbar, da er bereits vor Transplantation zusätzlich die spenderspezifischen Banden zeigte.

Zusammenfassend konnten unsere Ergebnisse einen Stammzell-Mikrochimärismus nach Lebertransplantation zeigen. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Leber Erwachsener immer noch hämatopoetische Stammzellen/Vorläuferzellen enthält. Diese Zellen könnten den Mikrochimärismus über Jahre unterstützen. Die funktionelle Bedeutung dieses Phänomens muss jedoch noch definiert werden.