

Urs Nydegger¹, Georg Riedler²

Transplantation von Nabelschnurblutstammzellen

Diesen Text widmet die «pipette» den Pionierleistungen von Professor Bruno Speck (1934–1998)³

In der Schweiz und in Europa nimmt die Akzeptanz der Nabelschnurblutspende zu – zu welchem Zweck? Ein breiter Fächer von Erkrankungen wird gegenwärtig auf die Wirkung von Stammzellbehandlungen untersucht – wie beispielsweise Rückenmarkverletzungen, Maculadystrophie, Crohn'sche Krankheit und Herzinsuffizienz um nur einige zu nennen – neben den klassischen Indikationen wie schwer behandelbare Leukämien, Immundefizienzen und Fanconi-Anämie. In der Schweiz wurden die ersten Knochenmarkstammzelltransplantationen durch die Gruppe um Bruno Speck in Basel erfolgreich durchgeführt. Während Embryonen als Quelle solcher Zellen durch verschiedene Stellen und Gruppen in Frage gestellt wird, wächst die Erfahrung mit Knochenmark, peripherem Blut und Nabelschnurblut als Ausgangsmaterial laufend. Im September 2010 hat in Österreich ein internationales Symposium zum Thema stattgefunden, das die Autoren besucht und aus dem Blickwinkel der Labormedizin mit Interesse verfolgt haben (www.vivocell.org).

Da die Plazenta während der Schwangerschaft neben der Ernährungsfunktion auch eine Barriere und Wächterfunktion inne hat, die die Individualitäten der maternellen und kindlichen Immunität so auseinanderhalten, dass es nicht zu einem Abort kommen kann, ist sie auch ein Garant für die

Toleranz mütterlicher Immunität gegenüber dem «Allotransplantat»-Fetus. Neben der Immunkompetenz mit Innate und Adaptive Immunity spielt sich dort ein lebhafter Blutzell-Turnover ab, so, dass zum Termin im Nabelschnurblut multi- und pluripotent ausgerichtete Zellen reichlich vorhanden sind. Schon in den 1920er Jahren kam die Idee auf, Nabelschnurblutzellen aufzufangen um gewissen Patienten deren Eigenschaften zukommen zu lassen, aber erst im Jahre 1989 kam es zur alles entscheidenden klinischen Beobachtung, dass man ähnlich viele Stamm- und Progenitorzellen daraus gewinnen könne, wie dies aus Knochenmarkpunktaten möglich ist. Die ersten mit Stammzellen behandelten Patienten litten an Fanconi-Anämie, kompliziert durch schwere aplastische Krisen. Als die Mutter eines gesunden Zwillinges schwanger war, konnte man aus dessen Nabelschnurblut HLA-identische Stammzellen gewinnen, die für das Fanconi-Anämie-erkrankte Geschwisterkind therapeutische Wirkung entfalten konnte. Man hat schon damals erkannt, dass das unreife lymphoide System des Neugeborenen zur Induktion einer Abstoßung unfähig ist und dass damit das Tor zu einer auch unvollständig HLA-kompatiblen Transplantation geöffnet wurde. Seither wurde dieses Verfahren laufend auf seine therapeutische Wertigkeit untersucht. Der Anstieg der Anfragen

belegt das vermehrte Interesse an dieser Behandlungsmöglichkeit.

Nach der Geburt wird das Nabelschnurblut aufgefangen, sei dies durch den geburts helfenden Arzt, die Hebamme oder einen geübten Operator. Entweder wird das Blut noch vor Austritt der Nachgeburt gesammelt oder, was häufiger der Fall ist, erst bei der frisch ausgetretenen Plazenta durch das Ausfliessenlassen in einen sterilen Blutbeutel. Man misst sofort das Volumen und zählt die Zellen, so dass man eine Idee über den Stammzellgehalt erhält. Werden die aufgestellten Kriterien erfüllt, so wird das Präparat zusammen mit etwas Dimethylsulfoxid – einem Kälteschutzmittel – in einen protektiven Kanister gebracht, und das Einfrieren mithilfe von flüssigem Stickstoff und nach einem Konsensusprotokoll vollzogen. Nach der Transfusion sollen die Nabelschnurstammzellen in die erkrankten Gewebe auswandern. Aktuell werden drei Methoden untersucht, die die Gewebsniederlassung («homing») von Stammzellen verbessern sollten: Zugabe von entweder Prostaglandin, oder *diA* oder Komplement Anaphylatoxin C3a. Dieses entfaltet mehrere biologische Aktivitäten, so auch eine Aktivierung von myeloiden Zellen. Bei merck4biosciences kann man C3a kaufen und einem Stammzellpräparat zugeben, bevor man dieses transfundiert.

In Europa ist die Knochenmarktransplantation eine wichtige Alternative zur Behandlung von Leukämien. So sind in Österreich in den letzten 20 Jahren über 1000 Patienten mit kompatiblen Spenderknochenmarkzellen behandelt worden; nicht immer aber häufig erfolgreich. Es zeigt sich, dass Knochenmarkstammzellen beim Fehlen geeigneter Spender durch Nabelschnurblutstammzellen ersetzt werden können. In Japan sind zwischen

¹ Redaktor der «pipette».

² Gründungspräsident und Ehrenmitglied der Schweizerischen Vereinigung für Transfusionsmedizin.

³ Bruno Speck wurde in Steffisburg BE geboren.

Die zu seiner Zeit überaus schlechte Prognose der aplastischen Anämie wurde für ihn zur lebenslangen therapeutischen Herausforderung. 1969 wurde er an die klinische Hämatologie der Uni Leiden, Holland, berufen. Dort entwickelte er ein Kaninchenmodell, das für die Therapie beim Menschen bahnbrechend wurde. Die erste Knochenmarktransplantation der Schweiz wurde in den 1970er Jahren in Basel unter seiner Obhut erfolgreich durchgeführt. Aus der ganzen Welt kamen Patienten mit aplastischer Anämie und anderen unheilbaren Blutkrankheiten zur Behandlung in seine Klinik, wo er eines der ersten europäischen Zentren für Knochenmarktransplantation aufgebaut hat. Seither spielt die Stadt eine zentrale Funktion bei der Behandlung lebensgefährlicher Blutkrankheiten. B. Speck hat der Forschung über Blutstammzellen – heute aktuell und Thema des vorliegenden Beitrags der «pipette» – schon vor 30 Jahren Impulse gegeben.

August 1998 und August 2010 bereits 226 Patienten mit Nabelschnurblutstammzellen behandelt worden, davon 160 Erwachsene mit einer einzigen Einheit. Diese Angabe ist wichtig, weil mehrere Schulen heute dazu übergehen, zwei Einheiten Nabelschnurblut zu transfundieren. Besonders aktive Zentren für Nabelschnurblutstammzelltransplantationen sind in Australien, Frankreich, Japan und Spanien lokalisiert – mit weltweit wachsender Tendenz. Bisher erfolgte Nabelschnurblutstammzelltransfusionen werden weltweit auf ca. 20000 geschätzt. Auch nicht-maligne Erkrankungen wie schwere Immundefekte und angeborene metabolische Störungen können auf Nabelschnurblutstammzellen günstig ansprechen. Die letzten 5 Jahre standen im Zeichen vertiefter klinischer Studien mit Nabelschnurblutstammzellen. So sind im Massachusetts General Hospital in Boston bis heute über 120 Patienten mit dem neuartigen Verfahren der Doppeltspende (zwei Nabelschnurblutspenden auf einmal) behandelt worden; die Resultate versprechen hoffnungsvolle Fortschritte. Dabei interessiert der Umfang der HLA-Kom-

patibilität: sind 6 von 6 getesteten Antigenen kompatibel, oder reichen auch nur 5 von 6 aus oder muss man bei gewissen Patienten auf 8 von 8 steigern (www.hlamatchmarker.net)? Die klinischen Studienprotokolle mit Patienten zwischen 18 und 65 Jahren sind derzeit auf solche Kompatibilitätsfragen ausgerichtet; der labormedizinische Hintergrund liefert hier wichtige Entscheidungsgrundlagen.

Es bestehen Hoffnungen, für die regenerative Medizin Nabelschnurblutstammzellen statt embryonalem Zellmaterial zu verwenden, dessen ethische Grundlage zu hinterfragen ist (siehe nächste «pipette» 01/2011).

Labormedizinisches Backup der Nabelschnurbluttransplantation

In der Prätransplantationsphase

Beim Patienten

Noch vor 25 Jahren basierte die Diagnose der möglichen transplantierbaren Erkrankungen auf den morphologischen und zytochemischen Befunden von Blut und Knochenmark. Die Entwicklung der FACS-Analyse und der CD-Marker-Topogra-

phie ermöglicht nun eine noch genauere Definition der Blastzellen und Einblicke in die Prognose der verschiedenen Leukämietypen, während molekulargenetische Methoden klinisch relevante Translokationen aufdeckten. Bei der Zytfluorometrie muss die Labormedizin auf einer korrekten Standardisierung bestehen. Deshalb hat die Erasmus-Universität in Rotterdam zusammen mit acht anderen Zentren das Projekt Euroflow (euroflow.org) ins Leben gerufen. Mit diesem sollen verbindliche Protokolle zur diagnostischen Klassifizierung mithilfe der Vereinheitlichung von CD-Marker-Analysen geschaffen werden.

Im Nabelschnurblutzellpräparat

Vor dem Einfrieren des Präparates müssen mehrere Voraussetzungen definiert werden:

Die Eltern füllen einen Fragebogen aus, der ihre anamnestischen Angaben und die näherer Verwandter enthält. Eine Einverständniserklärung ist ebenfalls auszufüllen. Die während der Schwangerschaft erfolgten Laboruntersuchungen werden protokolliert. Auf dem Nabelschnurblutpräparat kommt es zu einem Hämatogramm mit Berechnung der Wiederfindungsrate, die CD45- und CD34-reaktiven Zellen werden bestimmt und die 7AAD(7-amino actinomycin D)-Anfärbbarkeit zur Beurteilung der Zellvitalität wird berechnet. Eine aerobe und eine anaerobe mikrobiologische Anzuchtung allfälliger Keime werden gleichzeitig abgenommen. Folgende Analysen werden durchgeführt: HbsAG, HCV-Screening, Treponema pallidum IgG-Serologie, CMV-IgM/G-Serologie und HIV-Screening, sowie AB0- und HLA-Typisierung, beide oft durch gentechnologische Diagnostik ergänzt. So kann sich das Inventar einer Zellbank auf gewisse HLA-Haplotypen ausrichten. Das Typisierungslabor ist dann gefordert, wenn sich beim Patienten spezielle HLA-Konstellationen finden. Mithilfe spezieller Methoden kann man nicht nur die Pluripotenz der Stammzellen beurteilen, sondern es lässt sich wohl so dereinst auch die hämopoietische Aktivität des Präparates voraussagen. Die HLA-Übereinstimmungstechnik

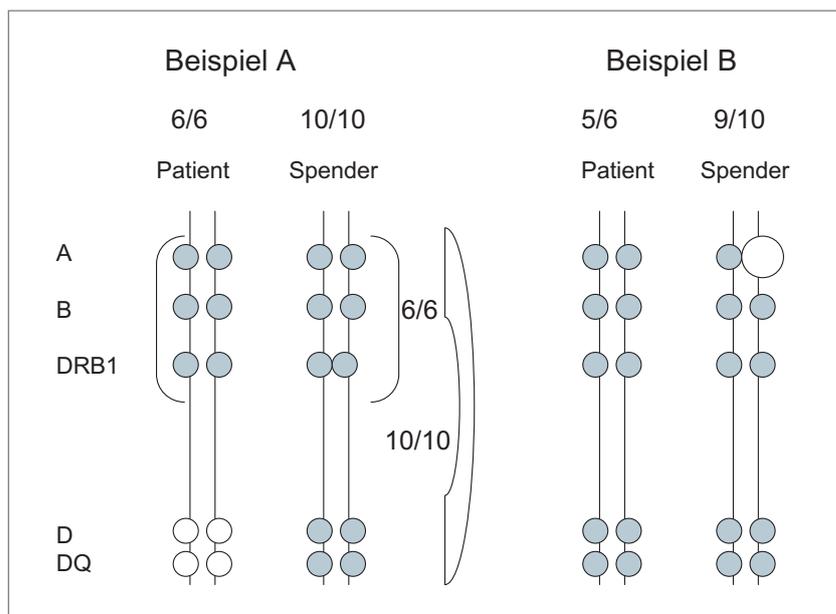


Abbildung 1

HLA-Matching zwischen Patient und Spender im medizinischen Labor.

Im Beispiel A stimmen alle Marker zwischen Spender und Empfänger überein: 6/6 bedeutet, dass A, B und DRB1 übereinstimmen. 10/10 bedeutet, dass nicht nur A, B und DRB1, sondern auch C und DQ übereinstimmen. Das Beispiel B zeigt einen 5 von 6, bzw. einen 9 von 10 Match. Die Labormedizin bietet nun auch die Möglichkeit, diese Typisierungen mithilfe molekularbiologischer Methoden durchzuführen, was eine noch subtilere Angleichung zwischen Spender und Empfänger bietet.

von heute nimmt sich als Minimum für eine Transplantation die 6/6-Paarung vor. Dies bedeutet, dass aus dem reichlichen Polymorphismus mindestens 2 HLA-A-, 2 HLA-B- und 2 DRB1-Marker zwischen Spender und Empfänger übereinstimmen sollten. Beim Erwachsenen sollten mindestens 5 von 6 Markern übereinstimmen und für Nabelschnurblut mindestens 4 der 6 Marker (www.hlamatchmaker.net).

In der Posttransplantationsphase

Bei der Nabelschnur Stammzelltransplantation erfolgt das Angehen des Transplantats zwei bis drei Wochen später als nach Gabe von Knochenmarkstammzellen. Es ergibt sich daher eine längere Zeit der Substitu-

tionsbedürftigkeit des Patienten mit labilen und stabilen Blutprodukten, insbesondere von Thrombozytenkonzentraten und i.v. Immunglobulinen. Zusätzlich zur Follow-up-Beurteilung der Krankheit gilt es auch den Erfolg solcher Substitutionsbehandlungen im Labor zu dokumentieren.

In der Schweiz bietet das labormedizinische Zentrum Dr. Risch in Zusammenarbeit mit SSCB eine Analytik zur Applikation von UBC an.

Korrespondenz:
Prof. Dr. med. Urs E. Nydegger
labormedizinisches Zentrum Dr. Risch
Waldeggstrasse 37
CH-3097 Liebefeld
nyu@lmz-risch.ch

Empfohlene Literatur:

- Wagner AM, Suter E, Ben Hassem D, Surbek D. Hohe Akzeptanz eines gemischten Nabelschnurblut-Spendemodells «Hybrid Banking». Schweizerische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, Jahreskongress 2010, 35.
- Van Rood JJ. Bruno Speck in Leiden: the clinician, the scientist, the man. *Acata Haematologica*. 2000;103:7–10.
- Broxmeyer, HE. Experimental basis and history of cord blood transplantation. 2nd Symposium on Stem Cells: From Bench to Bedside, Gmunden am Traunsee. Abstract Book 2010;15.
- Gertow J, Berglund S, Okas M, Uzunel M, Berg L, Kaerre K et al. Characterization of long-term mixed donor-donor chimerism after double cord blood transplantation. *Clin Exp Immunol*. 2010;162(1):146–55.
- www.closerlookatstemcells.org
- Hoffnung auf Heilung – teure Stammzellbehandlungen mit ungewissem Ausgang. *NZZ*. 20.10.2010;244:60.