

Stammzelltransplantation bei Kindern

Auch Eltern sind mögliche Spender



■ Stammzellen werden bei minus 170 Grad Celsius in flüssigem Stickstoff aufbewahrt.

Heute erkranken in Deutschland etwa 750 Kinder und Jugendliche Jahr für Jahr an Leukämien und anderen bösartigen Bluterkrankungen, davon rund 600 an einer Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL) und 150 an einer Akuten Myeloischen Leukämie (AML). Seit der Einführung moderner Chemotherapieprotokolle im Jahr 1970 ist aus dieser einst tödlichen eine jetzt heilbare Erkrankung geworden. Allerdings erleiden immer noch zirka 20 Prozent der Kinder mit einer ALL einen Rückfall. Die meisten der Kinder benötigen eine Stammzelltransplantation. In Deutschland sind dies pro Jahr etwa 100; in Frankfurt werden im Jahr gegenwärtig 20 Patienten mit Stammzelltransplanta-

tionen behandelt, davon rund 55 Prozent mit akuten Leukämien. Eine Stammzelltransplantation kostet bei Kindern gegenwärtig etwa 120 000 Euro.

1990 wurde der Nobelpreis für Medizin an Donall E. Thomas verliehen für seine Verdienste auf dem Gebiet der Knochenmarktransplantation. Er hat dieses Therapieverfahren von einer experimentellen Behandlungsmethode für unheilbar Kranke zur Routineanwendung weiterentwickelt, mit der Patienten mit bösartigen Krankheiten, vor allem akuten und chronischen Leukämien, aber auch gutartigen, aber lebensbedrohlichen Krankheiten, zum Beispiel aplastischen Anämien oder angeborenen Stoffwechsel-

und Immundefekten, behandelt werden können.

Dabei unterscheidet man die allogene von der autologen Transplantation. Bei der allogenen Transplantation handelt es sich um eine echte Organtransplantation, bei der hämatopoetische Stammzellen eines Spenders auf den Empfänger übertragen werden. Mittlerweile wird nicht mehr ausschließlich Knochenmark (KM) übertragen, da sich Stammzellen nicht nur im Knochenmark, sondern auch im peripheren Blut und im Nabelschnurblut (Plazentarestblut) finden. Daher spricht man heute im allgemeinen von der »Stammzelltransplantation«. Die übertragenen Stammzellen sind so genannte

»adulte« Zellen, aus denen sich blutbildende Zellen, aber auch Muskel- oder Gehirnzellen, entwickeln können. Solche hämatopoetischen Stammzellen stehen bei Neugeborenen, Kindern und Erwachsenen in ausreichendem Maß zur Verfügung. Allerdings ist es bisher nicht gelungen, die Stammzelle selbst zu identifizieren und zu isolieren. Bekannt ist lediglich der »Zellpool«, in dem sich die hämatopoetischen Stammzellen aufhalten: Er kann mit dem Marker CD34 gekennzeichnet werden. Die Zellen des Knochenmarks können nicht im Mikroskop, wohl jedoch aufgrund ihres Wachstumsverhaltens und mit immunologischen Methoden unterschieden werden. Aufgrund einer internationalen Übereinkunft haben alle Oberflächenmarker von Zellen, die sich mit klar definierten Antikörpern markieren lassen, eine einheitliche Codierung bekommen (CD = Clusters of Differentiation). Einer dieser Codes ist CD34, der den Zellpool kennzeichnet, in dem sich die hämatopoetische Stammzelle befindet.

Bei einer allogenen SZT (2) werden Vorläuferzellen transplantiert, die eine erfolgreiche Wiederbesiedlung des Knochenmarks mit den drei myeloischen Zelllinien (Erythrocyten, Granulozyten/Makrophagen, Thrombocyten) sowie den Aufbau eines funktionierenden Immunsystems gewährleisten. Voraussetzung für eine erfolgreiche allogene Transplantation ist die adäquate Vorbereitung (»Konditionierung«) des Empfängers. Dabei wird mit Hilfe einer intensiven Strahlen- und Chemotherapie sowohl die Blutbildung des Empfängers als auch sein Immunsystem zerstört. Diese war bisher so intensiv, dass eine Wiedererholung des Empfänger-Knochenmarks sicher ausgeschlossen werden konnte (so genannte supraletale Konditionierung). Mittlerweile sind weniger intensive Konditionierungsverfahren entwickelt worden, bei denen die Immunsuppression und nicht die Zerstörung der Empfängerblutbildung im Vordergrund steht (»nicht-myeloablative Konditionierung«). Bei bösartigen Krankheiten erfüllt die Konditionierung darüber hinaus den Sinn, die Leukämiezellen zu zerstören oder zumindest stark zu reduzieren.

Im Gegensatz zur allogenen SZT geht es bei der autologen Transplan-

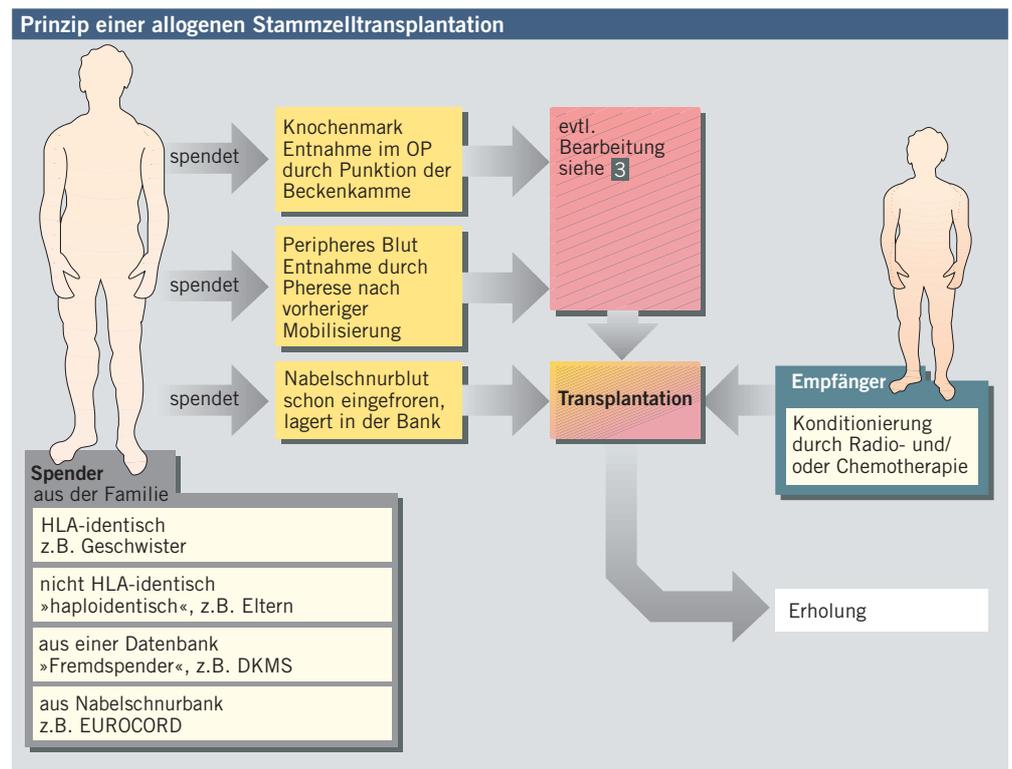
tation darum, eine Intensivierung der konventionellen Chemotherapie auf das Drei- bis Vierfache (»Hochdosistherapie«) zu ermöglichen. Hierbei dient die Stammzellgabe dazu, das Knochenmark vor den Folgen der hochdosierten Chemotherapie (»Rescue«) zu schützen.

Die Auswahl der Patienten, die eine SZT erhalten sollen, erfolgt nach verschiedenen Aspekten: Einerseits sollen nicht Patienten behandelt werden, die auch ohne dieses Verfahren gesund würden, andererseits nicht solche, bei denen die Wahrscheinlichkeit extrem hoch

krankte Kinder, Frankfurt e.V.« zur Verfügung gestellt. Im August 2002 war der erste Spatenstich.

Spenderauswahl und haploidentische Transplantation

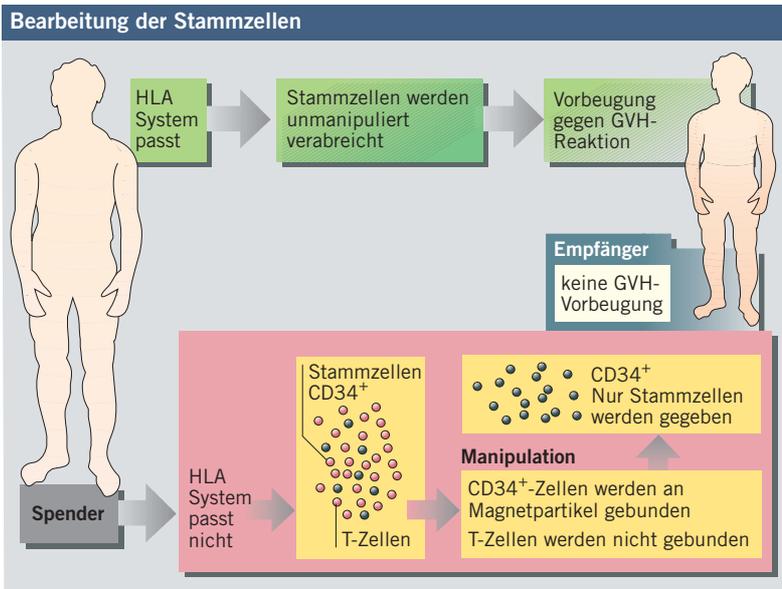
Die Auswahl des richtigen Spenders für eine allogene SZT ist ein schwieriges Unterfangen und abhängig von der Übereinstimmung der HLA-Merkmale (Human Leukocyte Antigen), zwischen Spender und Empfänger. Die Zellen des menschlichen Abwehrsystems verfügen über ein Identifikationssystem, mit dessen Hilfe sie körpereigene von körper-



ist, dass auch eine SZT nicht mehr helfen wird. Im Gegensatz zu den Anfangszeiten der SZT gilt eine Transplantation heute nicht mehr als »last chance«-Prinzip, sondern als Therapieverfahren im Rahmen eines rationalen Gesamtkonzepts, zu dem in erster Linie konventionell dosierte Chemo- und Radiotherapie gehören. Um betroffene Kinder im Universitätsklinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität besser behandeln zu können, wird dort bis zum Jahr 2004 ein Zentrum zur Stammzelltransplantation aufgebaut, das aus Mitteln der Hochschulbauförderung finanziert wird; der Landesanteil wird vollständig durch private Mittel, in erster Linie durch den Verein »Hilfe für Krebs-

fremden Zellen unterscheiden können. So wie Spieler unterschiedlicher Fußballmannschaften ein Trikot aus verschiedenen Bestandteilen (Hose, Hemd, Stutzen) tragen, die eine zweifelsfreie Zuordnung zulassen, »tragen« Körperzellen ein System von Oberflächenmarkern, die den Abwehrzellen des Körpers erlauben, »Selbst« und »Fremd« zu unterscheiden und »fremde« Zellen sofort aus dem Körper zu entfernen. Der ideale Spender aus der Sicht der genetischen Verträglichkeit wäre ein identisches Zwillingsgeschwister. Dieser optimale Zustand ist allerdings äußerst selten. Rund jeder fünfte Patient hat einen passenden – das heißt HLA-identischen – Spender, in der Regel Bruder oder

2 Bei einer autologen SZT sind Spender und Empfänger identisch.



Bei passendem HLA-System können die Zellen völlig unmanipuliert verabreicht werden. Bei abweichendem HLA-System (»Mismatch«) wird die CD34-positive Stammzellfraktion mit Hilfe eines Immunmagnetverfahrens herausgefiltert. Dies korrespondiert mit einer Entfernung von immunologisch aktiven T- und B-Zellen. Eine Vorbeugung gegen eine GVH-Reaktion nach SZT ist dann nicht mehr nötig.

Schwester, in der Familie. Für den Rest ist eine Suche nach einem unverwandten freiwilligen Spender, die so genannte Fremdspendersuche, über das nationale Suchzentrum Deutschlands (Zentrales Knochenmarktransplantationsregister Deutschland, ZKRD) nötig. Mittlerweile gibt es in allen Industriestaaten Spenderdatenbanken, die sowohl die Daten von freiwilligen, nicht-verwandten Spendern bereitstellen, als auch die Stammzellentnahme organisieren und die Spender betreuen. Die Datenbanken sind weltweit zusammengefasst (gegenwärtig rund 8 000 000 potenzielle Stammzellspender). In Deutschland wurde 1992 die Deutsche Knochenmarkspenderdatei (www.dkms.de) gegründet, die 800 000 Spender betreut und die größte Einzeldatei ist. Durch Suche in diesen Spenderdatenbanken wird für weitere 60 Prozent der Patienten rechtzeitig ein Spender gefunden.

Dies ist im Vergleich zur Situation vor zehn Jahren ein großer Fort-

schritt, bedeutet aber auch, dass wir zwar für vier von fünf unserer Patienten, die eine allogene SZT benötigen, rasch einen geeigneten Spender finden, für die übrigen 20 Prozent jedoch nicht.

Die Eltern als Spender

Angeregt durch die erfolgreiche Arbeit der Gruppe um Yair Reisner, Weizman Institute, Israel, und Massimo Martelli, Universität Perugia, Italien, ist es unserer Arbeitsgruppe in den letzten Jahren gelungen, für solche Patienten die Eltern als Spender heranzuziehen. Da bei Eltern nur die Hälfte der HLA-Merkmale genetisch übereinstimmen, nennen wir diese Konstellation haploidentisch.

Die ersten Versuche, nicht HLA-übereinstimmende (»nicht-gematchte«) Familienmitglieder als Spender heranzuziehen, scheiterten an zwei Hürden: Entweder wuchsen die Stammzellen überhaupt nicht erst an – sie wurden aufgrund der HLA-Barrieren abgestoßen –

und die Patienten starben an den Folgen der andauernden Knochenmarkinsuffizienz, oder sie starben nach erfolgreichem Angehen (»Engraftment«) an den Folgen der entstandenen Graft-versus-Host-Reaktion (GVHR). Diese Reaktion belastet die SZT auch dann, wenn Spender und Empfänger besser zusammenpassen, wird bei einer haploidentischen Konstellation jedoch zu einer unüberwindlichen Barriere. Grund sind die im Transplantat enthaltenen T-Zellen, die den Empfänger-Organismus attackieren.

Uns ist es gelungen, diese beiden Hürden zu überwinden. Dazu stellen wir sehr hohe Stammzell Dosen (Megadosen) bereit, die das Angehen der transplantierten Stammzellen auch bei großer HLA-Differenz erlauben. Die Gewinnung so großer Mengen ist durch den Einsatz von Knochenmarkwachstumsfaktoren mit Hilfe von Apheresegeäten möglich. Bei Kindern kommt uns der Gewichtsunterschied zwischen Spendern (Eltern) und Empfängern (Kinder) zugute, da es vom Gewicht des Spenders abhängt, wie viele Stammzellen gewonnen werden können. Die zweite Maßnahme, die haploidentische Transplantationen möglich gemacht hat, ist die komplette T-Zell-Depletion. Die T-Zellen, die die GVHR ausüben, werden mit der Technik der CD34-Selektion komplett entfernt. Wir arbeiten daran, die Aufbereitung der Spenderstammzellen noch zu verbessern, da durch die komplette T-Zell-Depletion die Gefahr von Infektionen und möglicherweise auch von Rezipienten nach der SZT größer ist als bei Anwesenheit der T-Zellen. Neuere Isolationstechniken werden möglicherweise den Stammzellpool so verbessern, dass sich die T-Zellen rascher wieder erholen.

Literatur

F. Aversa, A. Tabilio, A. Velardi et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. <i>New Engl J Med</i> 339: 1186–1193 (1998).	P. Bader, J. Handgretinger, H. Kreyenberg, N. J. Goulden, D. Niethammer, A. Oakhill, C. G. Steward, R. Handgretinger, J. F. Beck, T. Klingebiel. Minimal residual disease (MRD) status prior to allogeneic stem cell transplantation is a powerful predictor for post-transplant outcome	in children with ALL. <i>Leukemia</i> 16: 1668–72 (2002).	therapeutic intervention in acute lymphoblastic leukemias. <i>Ann Hematol</i> 81 (Suppl 2):S25–27 (2002).	hammer. Megadose transplantation of purified peripheral blood CD34+ progenitor cells from HLA-mismatched parental donors in children. <i>Bone Marrow Transpl</i> 27: 777–783 (2001).	scherer, E. Seifried, T. Klingebiel, D. Schwabe. Autologous transplantation of CD133 selected hematopoietic progenitor cells in a pediatric patient with relapsed leukemia. <i>Bone Marrow Transplant.</i> 29: 927–930 (2002).	P. Lang, R. Handgretinger, D. Niethammer, P. G. Schlegel, M. Schumm, J. Greil, P. Bader, C. Engel, H. Scheel-Walter, M. Eyrych, T. Klingebiel. Transplantation of highly purified CD34+ progenitor cells from unrelated donors in pediatric leukemia. <i>Blood</i> (2002).
--	--	---	---	--	--	--

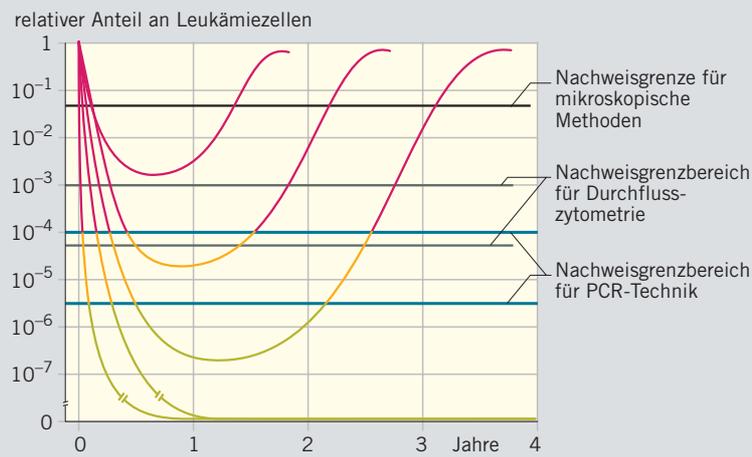
Rezidive, hämatopoetischer Chimärismus und MRD

Ein bisher ungelöstes Problem ist es, dass es trotz hochintensiver Konditionierung noch immer zu Rückfällen (Rezidiven) nach Transplantationen kommt. Offensichtlich sind Leukämien nicht alleine mit Hilfe einer Chemo- oder Strahlentherapie zu überwinden, auch wenn sie noch so hoch dosiert ist. Eine wesentliche Aufgabe der Spender-Stammzellen ist es, noch vorhandene Leukämiezellen (minimale Rest-erkrankung – englisch minimal residual disease, MRD) zu erkennen und zu beseitigen. Insofern ist die SZT eine in der Praxis angewandte und auch funktionierende Immuntherapie.

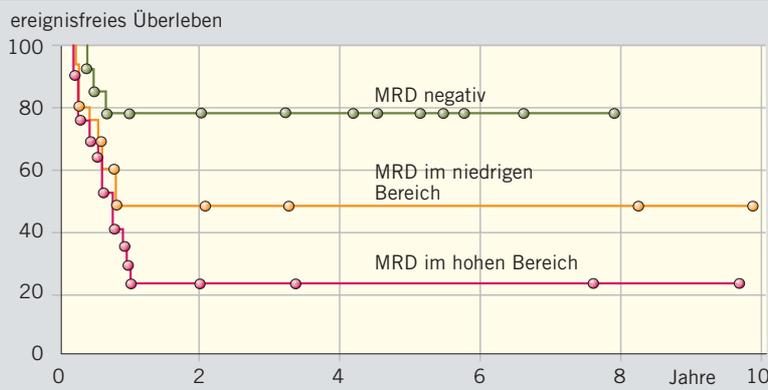
Mit minimaler Resterkrankung versteht man die Leukämiezellen, die auch nach erzielter Heilung noch vorhanden sein können. Es handelt sich um Leukämiezellen, die nur mit molekularbiologischen Methoden erkennbar sind, sich der mikroskopischen Betrachtung jedoch entziehen. Wir haben nachgewiesen, dass bei akuten lymphatischen Leukämien die Anzahl der noch vorhandenen Leukämiezellen vor der Transplantation maßgeblich für den Erfolg der SZT ist. Deswegen versuchen wir, für Patienten mit hoher Rezidivgefahr bessere Konditionierungsverfahren und eine bessere Nachbehandlung nach der SZT zu entwickeln [4].

Nach einer allogenen Transplantation wird die Bildung von Blut- (Hämatopoese) und Lymphzellen (Lymphopoese) durch Zellen des Spenders garantiert. Da diese Zellen einen vom Empfänger verschiedenen genetischen Ursprung haben, entsteht ein hämatopoetischer Chimärismus. Den Zustand, in dem die komplette Hämatopoese durch Spenderzellen erfolgt, bezeichnet man als kompletten Chimärismus und den Zustand, in dem entweder im Knochenmark oder im peripheren Blut Empfängerzellen nachweisbar sind, als gemischten Chimärismus. Nimmt der Empfängerzellanteil zu, spricht man von zunehmendem gemischten Chimärismus. Die Untersuchung des Chimärismus nutzt die Tatsache aus, dass es im menschlichen Erbgut so genannte repetitive DNA-Sequenzen an definierter Stelle gibt, durch die sich auch verwandte Individuen unter-

Rolle der MRD nach SZT



Rolle der MRD nach SZT



4 oben: Modellhafte Darstellung der Kinetik der Leukämiezellen und der möglichen Nachweismethoden im Rahmen einer Leukämiebehandlung. unten: Wahrscheinlichkeit, nach einer SZT einen Rückfall zu erleiden, in Abhängigkeit von der MRD-Beladung vor der SZT.

scheiden. Diese DNA-Sequenzen lassen sich mit der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) vermehren und untersuchen, sodass die exakte Länge der jeweiligen Sequenz bei Spender und Empfänger bekannt ist. Daraus kann der Anteil an Spender- und Empfängerzellen in einer Blut- oder Knochenmarkprobe ermittelt werden. Die Bestimmung des hämatopoetischen Chimärismus nach einer Transplantation gibt nicht nur darüber Auskunft, in welchem Ausmaß das neue Knochenmark funktioniert; sie stellt darüber hinaus vor allem bei malignen Erkrankungen ein wichtiges Instrument dar, Rezidive frühzeitig zu erkennen. Dabei werden nicht die Leukämiezellen selbst nachgewiesen, sondern die Abnahme der antileukämischen Wirksamkeit des transplantierten Marks mit zunehmendem Empfängeranteil (zunehmender gemischter Chimärismus) dient als Hinweis auf ein Rezidiv. In einer bundesweiten

Studie haben wir gezeigt, dass eine Immunstimulierung durch den Entzug der Immunsuppression oder die Gabe von Spender-Lymphozyten einen Rückfall bei einer akuten Leukämie verhindern kann. Damit gibt es nach SZT erstmals die Möglichkeit, gezielt einem Rezidiv entgegenzuwirken. Diese Erkenntnis ist von wesentlicher praktischer Bedeutung: Jahr für Jahr erkranken rund 30 Prozent der Patienten trotz erfolgreicher SZT an einem leukämischen Rezidiv. ◆

Der Autor:

Prof. Dr. Thomas Klingebiel, seit November 2000 Direktor der Klinik für Kinderheilkunde III, ist Experte auf dem Gebiet der Stammzelltransplantation.