

## Strategien zur Prophylaxe und Therapie der GVHD bei transplantierten Patienten

### Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT)

Die allogene Stammzelltransplantation hat sich in den letzten Jahrzehnten als eine immer häufiger eingesetzte kurative Therapieform für eine Vielzahl von hämatologischen und onkologischen Erkrankungen (v.a. Leukämien) etabliert. Sie bietet Patienten, die trotz intensiver Chemotherapie nicht von ihrer Leukämie geheilt werden konnten, eine zusätzliche Chance, die Krebserkrankung zu besiegen. Das Prinzip der Stammzelltransplantation beruht darauf, das erkrankte Knochenmark des Patienten durch das gesunde Knochenmark eines Spenders zu ersetzen. Dazu wird zunächst das Empfängermark durch eine Bestrahlung oder eine Chemotherapie zerstört. Anschließend wird das Transplantat wie eine Bluttransfusion über eine Vene infundiert.

### Graft-versus-host disease (GVHD)

Das Transplantat enthält neben den eigentlich für die Bildung der neuen Blutzellen notwendigen Stammzellen auch noch andere Zellen, die sich im Knochenmark oder Blut des Spenders befunden haben. Darunter befinden sich auch so genannte T-Lymphozyten. Diese haben einige wichtige Funktionen im Rahmen der Transplantation:

- Sie fördern das Anwachsen der Stammzellen im Knochenmark.
- Sie schützen vor schweren Infektionen, vor allem durch Viren und Pilze.
- Außerdem können sie nach der Bestrahlung oder Chemotherapie noch vorhandene Leukämiezellen des Patienten als „fremd“ erkennen und zerstören (GVL – Graft-versus-Leukämie Effekt). Damit sind sie vor allem bei Patienten mit Krebserkrankungen ein für den Erfolg der Behandlung entscheidender Faktor.

Allerdings können die T-Zellen nicht nur die Leukämiezellen, sondern auch körpereigene Zellen des Patienten als fremd erkennen und zerstören. Diesen Vorgang bezeichnet man als „graft-versus-host disease“ (GVHD). Das Risiko, eine GVHD zu entwickeln hängt eng mit der Kompatibilität ab, die durch das Leukozyten Antigen (HLA) bestimmt wird. Abhängig von der HLA-Übereinstimmung (Geschwisterspender, Fremdspender) sind 30% bis 80% der transplantierten Patienten betroffen. Die GVHD äußert sich meist als Hautausschlag, Durchfall oder Entzündung der Leber. Je nach Schweregrad der Immunreaktion kann die GVHD lebensbedrohliche Formen annehmen. Behandelt wird GVHD durch eine verstärkte Unterdrückung des Immunsystems durch immunsuppressive Medikamente, die wiederum das Auftreten von schweren Infektionen und Rückfällen der Leukämie fördert. Deshalb sind die GVHD und die Folgen ihrer Behandlung immer noch der häufigste Grund für ein Versterben des Patienten nach einer Transplantation. Neue Therapieansätze sind hier dringend erforderlich.

### Regulatorische T-Lymphozyten (Tregs)

Einen vielversprechenden Ansatz bietet der Einsatz von regulatorischen T-Zellen zur Unterdrückung der GVHD. Regulatorische T-Zellen (Treg) sind eine Untergruppe der CD4-positiven T-Lymphozyten. Tregs übernehmen regulatorische Funktionen im Immunsystem. Sie unterdrücken überschießende Immunreaktionen gegen Fremdanigene und vermitteln eine Selbsttoleranz, die uns vor Zerstörung von körpereigenem Gewebe durch autoreaktive T-Zellen schützt.

### Prinzipien der adoptiven Zelltherapie mit Tregs zur Unterdrückung von GVHD

Dieser Regulationsmechanismus ist prinzipiell auch auf die HSZT übertragbar, um mit diesen Tregs eine Toleranz zwischen Spender T-Zellen und dem Empfänger herzustellen. Notwendig für diese adoptive Immuntherapie sind Tregs des Spenders, die zusammen mit dem Knochenmarktransplantat auf den Patienten übertragen werden, um dort gezielt alloreaktive Spender T-Zellen zu unterdrücken (siehe Abbildung 1).

#### Adoptive Zelltherapie mit Tregs im Rahmen der HSZT zur Unterdrückung von GVHD

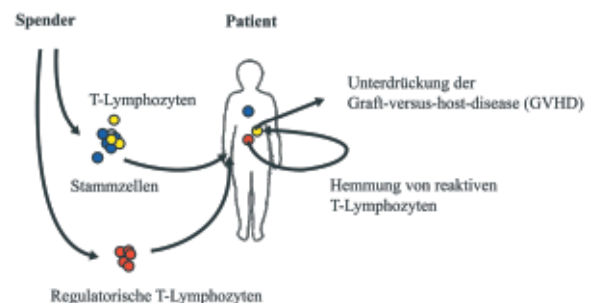


Abbildung 1:

Prinzip der adoptiven Zelltherapie mit regulatorischen T-Lymphozyten zur Unterdrückung der GVHD. Regulatorische T-Lymphozyten und hämatopoetischen Stammzellen des Spenders werden zusammen über die Vene in den Patienten infundiert.

Eine Hauptschwierigkeit bei der klinischen Applikation dieser Zellen ist deren geringe Anzahl im peripheren Blut. Es ist daher notwendig, diese Zellen außerhalb des Körpers zu kultivieren und zu vermehren, um sie in ausreichender Form verabreichen zu können. Um diesen Schritt zu verwirklichen, verfolgen wir folgende Strategien:

1. Spender T-Zellen werden in regulatorische T-Zellen konvertiert und gegen allogene-präsentierende Empfängerzellen toleriert (Induktionsphase).

Strategien zur Prophylaxe und Therapie der GVHD bei transplantierten Patienten

Im zweiten Schritt werden die Tregs weiterkultiviert und vermehrt (Expansionsphase). Die Tregs werden während und nach der Kultivierung funktionell und phänotypisch mit Hilfe von zellbiologischen (Durchflusszytometrie), biochemischen (Bio-Plex) und molekularbiologischen Methoden (Real-time PCR) überwacht (siehe Abbildung 2).

Mit dieser Methode gelingt es uns, Tregs in vitro zu induzieren und unter Beibehaltung ihrer regulatorischen Kapazität in großen Mengen herzustellen.

2. Die Umprogrammierung von Spender-T-Zellen in Tregs wird durch Genmanipulation hervorgerufen, in dem ein entscheidender genetischer Entwicklungsfaktor (Transkriptionsfaktor: Foxp3) in die Zellen eingebracht wird. Anschließend werden diese Zellen kultiviert und vervielfältigt (siehe Abbildung 3).

Wir hoffen, mit diesen beiden Strategien eine wissenschaftliche Grundlage zu schaffen, die es in der Zukunft ermöglichen wird, Tregs zur Vorbeugung und Therapie der GVHD einzusetzen.

Unser besonderer Dank gilt der Mehr LEBEN für krebskranke Kinder – Bettina-Bräu-Stiftung und der Elterninitiative Intern 3 für ihre fortwährende Unterstützung. An dieser Stelle möchten wir uns auch bei allen Kolleginnen und Kollegen im Labor, sowie der gesamten Station Intern 3 herzlich bedanken.

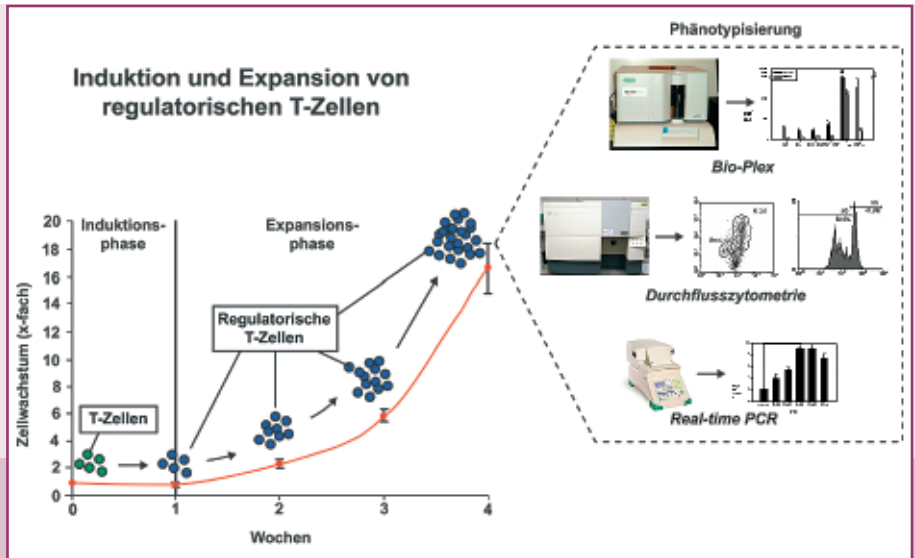


Abbildung 2:

In vitro Induktion und Expansion von regulatorischen T-Lymphozyten, um sie in ausreichender Menge für eine adoptive Zelltherapie bereit zu stellen. Wichtige Zellfunktionen werden anhand von zellbiologischen (Durchflusszytometrie), biochemischen (Bio-Plex) und molekularbiologischen Methoden (Real-time PCR) überwacht.



Abbildung 3:

Umprogrammierung von T-Zellen in Tregs durch ektopische Expression von Foxp3 (Transkriptionsfaktor, der essentiell für die Entwicklung von Tregs ist).

Glossar

- Allogen** Von genetisch diffren-ten Individuen
- Bio-Plex** Luminex-basierende Methode zur Quanti-fizierung von Zytokinen
- Hämatopoese** Bildung und Reifung der Blutzellen
- In vitro** Außerhalb des leben-den Organismus
- Real-time PCR** Polymerase-Kettenre-aktion zur Quantifizierung
- Transfektion** Einbringen von Fremd-DNA in eine Zelle

Das Team:

- Dr. med. Michael Albert**  
(Bild links)
- Dr. rer. nat. Thomas Magg**  
(Bild rechts)
- Carola Laudano, MTA**  
(zum Zeitpunkt der Drucklegung leider kein Bild vorhanden)

