

Mesenchymale Stromazellen: Vielversprechende Kandidaten für Zelltherapie

Mesenchymale Stromazellen (MSC) schieben sich zunehmend ins Rampenlicht als Hoffnungsträger für somatische Zelltherapien. In mehr als 300 klinischen Studien untersucht die biomedizinische Forschungsgemeinde derzeit ihre Eignung für höchst unterschiedliche Indikationen.

Prof. Dr. Hubert Schrezenmeier, Ärztlicher Direktor und Medizinischer Geschäftsführer des Instituts für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm (IKT), ist an vier klinischen Studien beteiligt, die zusammen mit der Ulmer Universitätsmedizin durchgeführt werden. Der Professor für Transfusionsmedizin hält die fibroblastenähnlichen Zellen wegen ihres breiten Anwendungsspektrums für „vielversprechende Kandidaten“.

Schwierige definitorische Abgrenzung

Noch vor vier, fünf Jahren stand das Kürzel MSC für mesenchymale Stammzellen. Da aber nach aktuellen Erkenntnissen ihre Differenzierungsfähigkeit doch begrenzt ist und bis heute der Beweis ihrer Selbsterneuerung fehlt, sind heute MSC gleichbedeutend mit mesenchymalen Stromazellen.

Mesenchymale Stromazellen (MSC) befinden sich beim Menschen in mehr als einem Dutzend Geweben und Organen, unter anderem in Knochenmark, Fettgewebe oder Nabelschnurblut. Von anderen Zelltypen lassen sie sich nicht so einfach unterscheiden: Noch fehlt ein spezifischer MSC-Marker. Die Fachwelt hat sich deshalb auf eine Art Minimalkonsens geeinigt: Die Zellen müssen an Plastik anhaften, sich in Osteoblasten, Adipozyten und Chondrozyten unter Standardkulturbedingungen differenzieren lassen und über bestimmte Oberflächenantigene verfügen oder eben bestimmte nicht exprimieren.

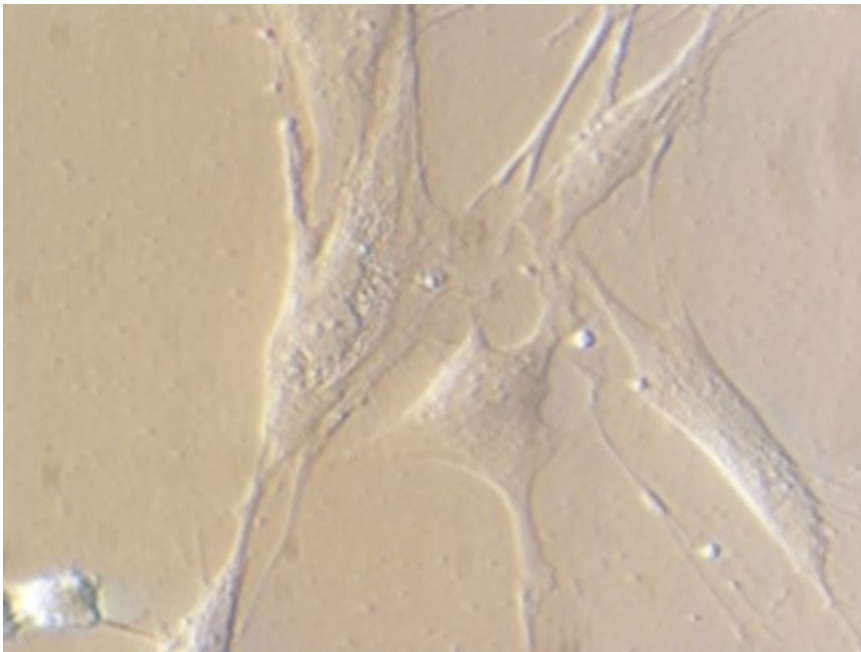
Schrezenmeier, der mit seinem Team im Rahmen von EU-Projekten einen GMP-Herstellungsprozess für MSC entwickelt hat, sorgt sich wegen dieser relativen Heterogenität nicht. Wenn die Zellen zwei bis drei Wochen in Kultur genommen werden, „kriegen wir eine einheitliche Population, möglicherweise eine Subpopulation“, die frei von Lymphozyten, hämatopoetischen Zellen oder Endothel-Zellen ist. Nach heutigem Wissenstand gelte für MSC: Heterogenität in vivo - ja; Heterogenität ex vivo - nein.

Immunmodulation und Regeneration



Prof. Hubert Schrezenmeier.
© IKT Ulm

MSC haben das Potenzial, das Immunsystem zu supprimieren und zumindest in Knorpel-, Knochen- und Fettzellen zu differenzieren und wahrscheinlich darüber hinaus auch noch die organständigen Stammzellen im Körper zur Differenzierung und Proliferation zu stimulieren. Aus diesen Eigenschaften ergeben sich verschiedene Anwendungsfelder, zum Beispiel eine immunmodulatorische Therapie bei Autoimmunerkrankungen (Erkrankungen mit überschießenden Entzündungsreaktionen wie Morbus Crohn oder rheumatoide Arthritis). Die in der Klinik mit am besten untersuchte Indikation ist die Transplantat-Wirt-Reaktion (Graft-versus-host disease, GvHD) nach allogener Stammzelltransplantation. Hier haben sich, so Schrezenmeier, MSC nach einer Reihe von Studien schon als wirksam erwiesen.



Lichtmikroskopische Aufnahme von MSC.
© IKT Ulm

Großes Potenzial bei Knochenbildung

Klinische MSC-Studien laufen auch zu Indikationen wie Organtransplantationen, Herzerkrankungen oder Leberzirrhose. Ihr größtes Potenzial könnten MSC nach Schrezenmeiers Worten bei der Knochenbildung entwickeln. Zur Therapie von Knochen- und Knorpeldefekten werden einige Dutzend klinische Studien durchgeführt.

Für einen Teil der derzeit untersuchten Indikationen fehlt eine konkurrierende, alternative Therapie; MSC kann aber auch andere Zelltherapien ergänzen, zum Beispiel als Kombi-Therapie wie bei der hämatopoetischen Stammzelltransplantation.

Innerhalb der regenerativen Therapien nehmen MSC eine besondere Stellung ein, weil sie leicht zugänglich (zum Beispiel über Knochenmark und Fettgewebe) und ebenso leicht vermehrbar sind und ein breites Anwendungsspektrum aufweisen. Bis MSC ihre Wirksamkeit in regenerativen Indikationen in vergleichenden Phase-3-Studien belegt haben, wird man aber noch einige Jahre warten müssen.

Bislang keine Risiken

Aus bisherigen klinischen Prüfungen sind keine Nebenwirkungen bekannt, weder eine akute infusionsabhängige Toxizität noch eine autonome Proliferation (Tumorigenität). Allerdings war die MSC-Therapie durch zwei Publikationen diskreditiert worden, sagt Schrezenmeier, die nach In-vitro-Studien eine Transdifferenzierung von MSC in epitheliale Tumoren behauptet hatten. Beide Arbeiten wurden inzwischen zurückgezogen, weil die Originaldaten durch Laborkontaminationen unbrauchbar waren.

Schrezenmeiers Team hat derzeit Genehmigungen für vier verschiedene klinische Prüfungen der Phase II, alle in verschiedenen Indikationen zur Regeneration von Knochen. Zu drei klinischen Prüfungen werden gerade Präparate für die klinische Anwendung hergestellt. Bis Ende 2014 soll die Rekrutierung von Patienten (etwa 30) für die eine, bis Mitte 2015 für die beiden anderen,



In mehrlagigen Kulturgefäßen werden die adhärennten MSC hergestellt.
© IKT Ulm

abgeschlossen sein.

Das Feld der MSC-Forschung ist noch lange nicht bestellt. So entdeckte Schrezenmeier zusammen mit den Ulmer Kolleginnen Karin Scharffetter-Kochanek (Universitätshautklinik) und Anita Ignatius (Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik) in einem EU-Projekt eine neue physiologische Funktion von MSC. Am Mausmodell wiesen sie eine beschleunigte Wundheilung und eine verringerte Gewebe-Fibrose nach (Qi, et. al.). Diese Studie, so Schrezenmeier, habe die Vermutung erhärtet, dass MSC eine parakrine Funktion ausüben.

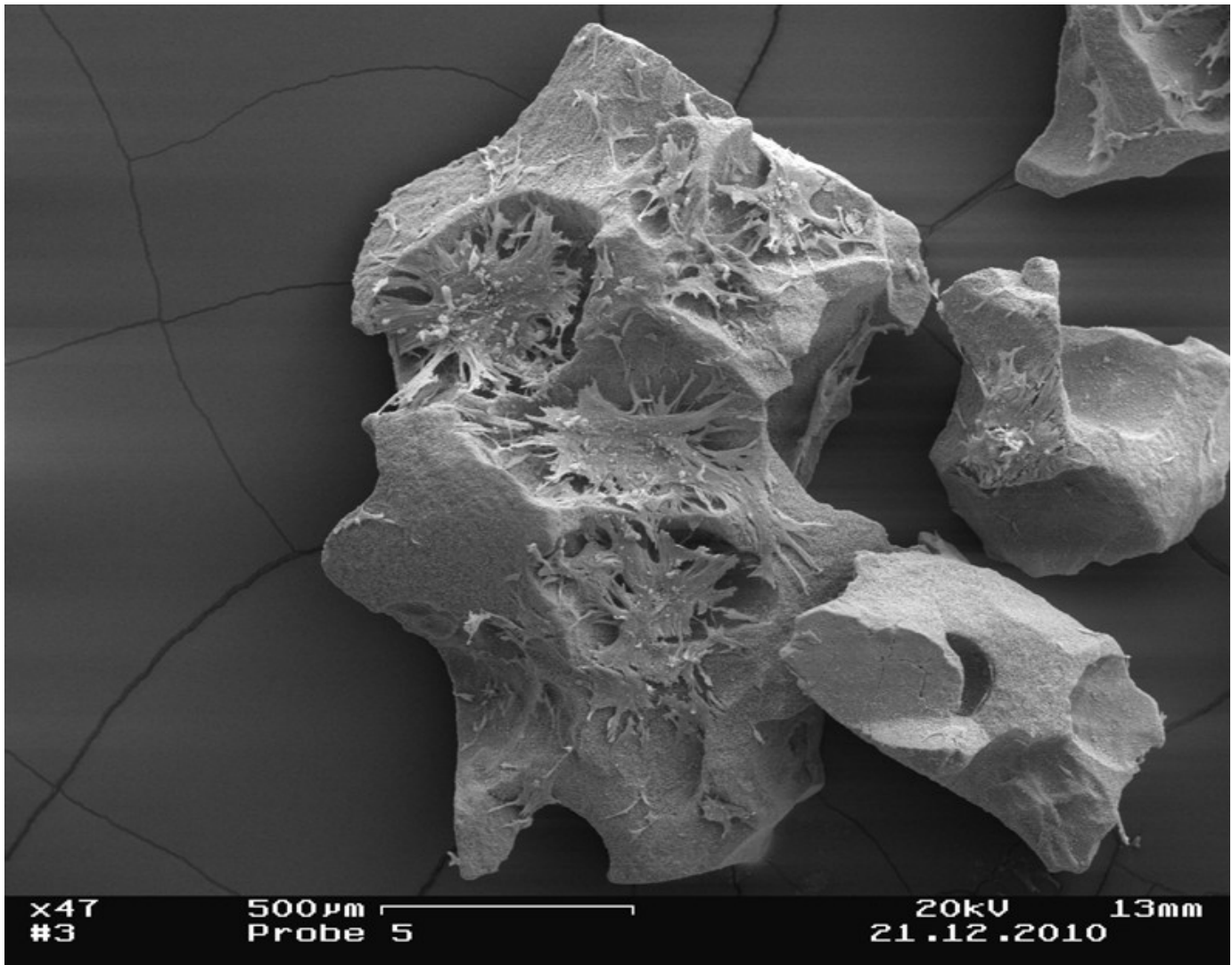
Noch Fragen zu Persistenz, Biodistribution und Dosis

Noch ist nicht vollständig klar, durch welche Mechanismen MSC ihre Umgebung beeinflussen. Diese grundlegenden Aspekte untersuchen einige EU-Projekte im Hinblick auf die therapeutische Anwendung. Aus Studien weiß man, dass die Biodistribution der MSC von der Art der Applikation abhängt. Bei intravenösen Gaben finden sich fast 90 Prozent der Zellen zunächst in der Lunge. Einige Tage später findet man sie in Leber, Milz, Knochenmark und in geringer Zahl auch im Gehirn. Das ist, wenn man bestimmte Zielstrukturen therapeutisch erreichen möchte, nicht notwendigerweise nachteilig, sagt Hubert Schrezenmeier unter Verweis auf ein Tiermodell der Myokard-Regeneration, wo selbst von der Lunge aus MSC-Faktoren (wie TSG-6) in einer Art Fernwirkung die Regeneration des Herzmuskels beeinflussten.

In klinischen Studien gibt der Ulmer Mediziner MSC lokal in den Ort der Läsion. Präklinische Untersuchungen zur Biodistribution zeigten, dass MSC nicht weiterwanderten. Aussagen zur Persistenz der MSC im Körper sind derzeit schwierig zu beantworten, denn in klinischen Studien

wurde bislang auf eine Marker-Substanz verzichtet, um das Manipulationsrisiko zu minimieren. Noch nicht geklärt ist die Dosierung von MSC bei untersuchten Indikationen. In GvHD-Studien bei systemischer MSC-Gabe hat sich eine Dosis von zwei Mio. Zellen pro kg Körpergewicht herauskristallisiert. Die Erfahrungen bei mehreren 100 Patienten in der GvHD-Therapie haben nach Schrezenmeiers Worten bislang keine nachteiligen Wirkungen gezeigt. Allerdings erwartet der Ulmer weitere Studien zur Dosisoptimierung.

GMP-Production made in Ulm



REM-Aufnahme zeigt MSC, die an Biomaterialien haften.

© IKT Ulm

Im Rahmen von EU-Projekten haben Schrezenmeier und sein Team in den vergangenen vier Jahren einen GMP-Herstellungsprozess für die klinische Anwendung von MSC entwickelt. 2013 gab die Behörde grünes Licht. Von den drei untersuchten MSC-Quellen (Knochenmark, Fettgewebe und Nabelschnurblut) hat sich das Nabelschnurblut als zu kompliziert für die pharmazeutische Umsetzung erwiesen. Da es mehr präklinische Daten zu MSC aus Knochenmark gab, wohl aber keine produktionsrelevanten Unterschiede für MSC aus Fettgewebe, entschied sich das Konsortium für das Knochenmark als Quelle.

Weil MSC ein recht seltener Zelltyp sind - im Knochenmark ist nur eine von 10.000 bis 100.000 Zellen eine MSC - müssen sie außerhalb des Körpers vermehrt werden, um klinische Dosen zu generieren. Die zweiphasige MSC-Vermehrung umfasst 17 Populationsverdopplungen. 4.000 Zellen werden pro

Quadratcentimeter ausgesät, bei etwa 50.000 Zellen pro Quadratcentimeter ist ein kompletter Zellrasen erreicht. Da MSC streng adhärent wachsen, muss man ihnen eine Matrix zum Wachsen anbieten, muss den Weg der Oberflächenvergrößerung gehen. Diesen Platz zu schaffen, ist sehr aufwendig, sagt Schrezenmeier, denn 200 Millionen Zellen für eine klinische Dosis verlangen zwei Quadratmeter Kulturfläche. Dies wird in den sechs GMP-Einheiten am Ulmer Eselsberg mit Hilfe von stapelbaren Kulturgefäßen bewerkstelligt.

Plättchenlysat eignet sich als Nährmedium

Mittlerweile haben die Ulmer mit Blutplättchen-Lysat ein Medium gefunden, in dem die MSC-Herstellung sehr gut funktioniert. Auch hier hat sich in vier Jahren viel getan: In Forschungslabors war es Standard, MSC in Medien mit Supplement von fötalem Kälberserum zu ziehen. Mit anderen Medien wuchsen MSC schlecht. Aber Kälberserum für die GMP-Herstellung ist wenig geeignet; so kamen Daten, dass die Wachstumsraten von MSC in Thrombozyten-Lysat – einem Arzneimittel, das zur Transfusion bei Patienten zugelassen ist - gut sind, hochwillkommen. Schließlich wird dieses Produkt in der Ulmer Blutspendezentrale erstellt. „Wir haben letztendlich für die Herstellung von MSC einen Ausgangsstoff menschlichen Ursprungs, der sehr standardisiert ist, auch wenn er nicht bis zur letzten molekularen Komponente definiert ist, auf Qualität getestet und auch damit weitergemacht, aus pragmatischen Gründen, denn es spricht vieles dafür, es zu nutzen.“ Dennoch will Hubert Schrezenmeier aus wissenschaftlichem Interesse ergründen, was das MSC-Wachstum genau antreibt.

Die Herstellung von klinischen MSC-Dosen kostet einen fünfstelligen Betrag, was rasch die Frage nach der Finanzierbarkeit solcher Therapien aufwirft. Schrezenmeier, die aktuellen klinischen Prüfungen im Blick, sieht hier keineswegs ein nachteiliges Kosten-Nutzen-Verhältnis, vor allem wenn diese Zellen in Indikationen mit klinischem Bedarf eingesetzt werden würden, bei nichtheilenden Frakturen langer Röhrenknochen (Oberschenkel- oder Schienbeinbrüche; oft Unfallopfer) oder bei avaskulären Nekrosen oder aseptischen Nekrosen (schmerzhaften Knochenerkrankungen des Hüftkopfs).

Literatur:

Qi Y. et al.: TSG-6 released from intradermally injected mesenchymal stem cells accelerates wound healing and reduces tissue fibrosis in murine full-thickness skin wounds, *J Invest Dermatol.* (2014), Vol. 134, S. 526-537.

Fekete, N. et al.: Essential Components for Ex Vivo Proliferation of Mesenchymal Stromal Cells, *Tissue Engineering: Part C*, 2014 Feb;20(2):129-39.

Rojewski, M. T. et al.: GMP-compliant isolation and expansion of bone marrow-derived MSCs in the closed, automated device quantum cell expansion system. *Cell Transplant* 2013;22(11):1981-2000.

Fekete, N. et al.: GMP-Compliant Isolation and Large-Scale Expansion of Bone Marrow-Derived MSC. *PLoS ONE*, August 2012, Vol. 7, Issue 8, e43255 (doi:10.1371/journal.pone.0043255).

Rojewski, M. T. et al.: Platelet lysate from whole blood-derived pooled platelet concentrates and apheresis-derived platelet concentrates for the isolation and expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells: production process, content and identification of active components. *Cytotherapy* 2012; 14, S. 540-554.

Fekete, N. et al.: Mesenchymale Stromazellen und ihre klinische Anwendbarkeit, *Transfusionsmedizin*. 2012, 2, S. 17-27, DOI: <https://www.gesundheitsindustrie-bw.dedx.doi.org/10.1055/s-0031-1271598>.

Sensebé, L. et al.: Mesenchymal stem cells for clinical application. *Vox Sanguinis* (2010), 98, S. 93-107.

Fachbeitrag

15.09.2014

wp

BioRegionUlm

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

- ▶ Institut für Transfusionsmedizin und Immungenetik, IKT
Ulm
-

Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Zell- und Gentherapien: Aus der Forschung in die Klinik