

Projekt

Adoptive Zelltherapie mit Gedächtnis-B-Lymphozyten nach Transplantation mit Blutstammzellen
Kurztitel: Immuntherapie mit Gedächtnis-B-Lymphozyten

Projektleitung

Dr. med. Julia Winkler

Professor Dr. rer.nat. Michael Mach

Professor Dr. med. Andreas
Mackensen

Professor Dr. rer.nat Thomas Winkler

Universitätsklinikum Erlangen
Medizinische Klinik 5
Krankenhausstraße 12
91054 Erlangen

Tel: 0 91 31 / 85 – 4 31 12

Fax: 0 91 31 / 85 – 3 59 84

julia.winkler@uk-erlangen.de

www.medizin5.uk-erlangen.de



Projektfortschritt 2011

Hintergrund: Wir konnten zeigen, dass Gedächtnis-B-Lymphozyten von CMV-infizierten Mäusen nach adoptiven Transfer in immundefiziente Mäuse vor einer lethalen CMV-Infektion schützen können. Diese tierexperimentellen Daten zeigen, dass memory B-Lymphozyten ein virus-spezifisches therapeutisches Potential besitzen und eine zellulär-basierte Therapie mit B-Lymphozyten eine humorale Immunantwort bei Auftreten einer Immundefizienz, wie sie z.B. nach allogener Stammzelltransplantation auftritt, verbessern könnte (Klenovsek et al., 2007, Blood 110: 3472-9). Der adoptive Transfer von B-Lymphozyten ist bisher noch nicht zur klinischen Anwendung gekommen, deshalb war es notwendig, eine Technologie für die Herstellung eines GMP-gerechten B-Zellprodukts zu entwickeln.

Methode: Zur Technologieentwicklung reinigten wir B-Lymphozyten aus Leukapheresen von gesunden Blutspendern auf. Die B-Lymphozyten wurden in zwei verschiedenen Separationsstrategien mit GMP-gerechten Magnetbeads und unter Verwendung des Zellseparators CliniMACS™ angereichert, um eine möglichst niedrige Kontamination an Donor-T-Lymphozyten zur Vermeidung einer Graft-versus-host-Erkrankung zu erreichen. Wir verfolgten ein Ein-Schritt-Protokoll mit alleiniger Positivselektion der B-Lymphozyten mit anti-CD19-Microbeads und ein Zwei-Schritt-Protokoll mit einer Depletion der T-Lymphozyten mit anti-CD3-Microbeads im ersten Schritt und einer anschließenden Anreicherung der B-Lymphozyten mit anti-CD19-Microbeads.

Ergebnisse: Die Leukapheresen enthielten im Mittel $9,0 \times 10^8$ CD19-positive B-Lymphozyten ($4,5-12,4 \times 10^8$). Nach alleiniger Aufreinigung der B-Lymphozyten wurde eine Reinheit von 78,1% B-Lymphozyten mit einer Wiederfindungsrate von 32-41% erreicht. Mit der Zwei-Schritt-Aufreinigung wurde eine mittlere Reinheit von 96,4% (93,4-97,8%) mit einer etwas niedrigeren Wiederfindungsrate von 14-37% erreicht. Die absolute Zahl an B-Lymphozyten nach Separation lag zwischen $1,3$ und $4,0 \times 10^8$ für das Ein-Schritt-Verfahren und zwischen $1,7$ und $2,6 \times 10^8$ für das Zwei-Schritt-Verfahren. Die Absolutzahl an residuellen T-Lymphozyten war niedriger nach dem Zwei-Schritt-Protokoll als nach dem Ein-Schritt-Protokoll ($0,1 - 0,9 \times 10^6$ versus $1,6$ to $3,4 \times 10^6$ T-Lymphozyten). Bezogen auf einen Patienten nach allogener Stammzelltransplantation mit 70 kg Körpergewicht enthielt das B-Zellprodukt nach

der kombinierten CD3-Depletion/CD19-Anreicherung weniger als 4×10^4 T-Lymphozyten/kg Körpergewicht und lag somit unterhalb der T-Zellzahl, die als kritische Größe in der haploidenten Stammzelltransplantation zur Vermeidung einer GVHD angesehen wird. Das B-Zellprodukt zeigte nach in vitro Stimulation eine Antikörperproduktion und nach Wiederauftauen eine Vitalität von >95%.

Zusammenfassung: Nach einer Zwei-Schritt-Separation unter Verwendung der CliniMACS™ Technologie kann ein GMP-gerechtes B-Zellprodukt mit hoher Reinheit und niedriger T-Zellzahl hergestellt werden.

April 2011