

„BIOBANK der Blutspender“

Eine innovative Plattform für die Entwicklung neuer, frühzeitig einsetzbarer Diagnostika

Zusammenfassung

Nach einer fünfjährigen Projektphase beendete die BIOBANK des Blutspendedienstes des Bayerischen Roten Kreuzes im September 2015 erfolgreich ihr Arbeitspaket innerhalb des Spitzenclusters m⁴, das mit über einer halben Million Euro vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert wurde.

Das Ziel des Teilprojektes „Biobank der Blutspender“ – eine innovative Plattform für die Entwicklung neuer und früh einsetzbarer Diagnostika innerhalb des Spitzenclusters m⁴ war die Neukonzeption der bestehenden Infrastruktur, um unseren Kunden Biobankproben zur Verfügung zu stellen, die den Qualitätsstandards und Spezifikationen der Biomarkerforscher genügen.

Mit Hilfe der Spitzenclusterförderung sollte ein indikationsselektiertes Biobank-Probenlager bei < -80 °C implementiert und eine größere Anzahl von Proben durch eine Aliquotierung in kleinere Volumina erzielt werden. Somit werden auch Qualitätsverluste durch mehrmalige Auftau-Einfrierzyklen vermieden. Um dieses Ziel zu erreichen wurden zunächst unter den über fünf Millionen Proben, die bei -40 °C im Tiefkühlager des Blutspendedienstes des Bayerischen Roten Kreuzes lagern, die Proben ausgewählt, die für die Biomarkerforschung von besonderem Interesse sind. Die Selektionskriterien, die dabei angewendet wurden, basierten auf den Erfahrungen bisher durchgeführter Kundenprojekte. In erster Linie wurden Proben von Spendern, die an Krebs, Herz-Kreislauferkrankungen oder Diabetes erkrankten und Proben von Spendern, die einen Schlaganfall erlitten, identifiziert. Zusammen mit den passenden Kontrollproben gesunder Spender wurden mit Ende des Clusterprogramms 25 000 Proben in das neue -86 °C Lager transferiert, wo sie nun in mehreren kleineren Aliquoten lagern.

Die Münchner Initiative „m⁴ – Personalisierte Medizin und zielgerichtete Therapien“ wurde im Januar 2010 als einer der Gewinner des Spitzencluster-Wettbewerbs des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) ausgezeichnet. Im Konsortium „m⁴ – eine neue Dimension in der Medikamentenentwicklung“ zur personalisierten Medizin haben sich Biotechnologie- und Pharmaunternehmen, Forschungseinrichtungen und -institute der beiden Münchner Universitäten LMU und TUM sowie ihrer Universitätskliniken und des Helmholtz Zentrums München zusammengeschlossen. Koordiniert wird die Initiative m⁴ durch die Bio^M Biotech Cluster Development GmbH.

Summary

After a five years project phase the “Blood Donor BIOBANK” at the Bavarian Red Cross blood donation service successfully completed in September 2015 its work package within the cluster initiative m⁴ that was funded by the BMBF with over half a million euros.

The goal of the project „Blood Donor BIOBANK” – an innovative platform for the development of new, early applicable diagnostics within the cluster m⁴ was to redesign the original set-up of the existing BIOBANK in order to provide our customers with biobank samples that fulfill the highest quality standards and specifications of the biomarker researcher.

During the period of m⁴ cluster initiative the project focused on the implementation of a disease specific sample storage at < -80 °C and an increased sample number by pipetting more and smaller sample aliquots of selected samples in order to avoid repeated freezing thawing processes. Therefore we selected from over five million samples stored at -40 °C in the storage facility at the Bavarian Red Cross Blood Donation Service samples of interest. The selection criteria that were applied were based on the experiences from former customers. Mainly samples from donors who developed cancer, heart disease, stroke or diabetes were identified. Together with the matching control samples from healthy donors we had 25 000 samples transferred into the new biobank storage facility by the end of the cluster program where they are stored in smaller sample volumes and at -86 °C.

Das Feld der personalisierten Medizin ist ein großer Zukunftsmarkt: Hier entstehen Diagnose- und Therapiekonzepte, die auf die individuellen Anlagen und das Krankheitsbild des Patienten zugeschnitten sind. Zentral ist dabei die Bewältigung von Herausforderungen der heutigen Medikamentenentwicklung, wie höhere Sicherheit und Wirksamkeit, kürzere Entwicklungszeiten sowie geringere Kosten.

Die Fokussierung auf eine individualisierte bzw. stratifizierte und Biomarker-basierte Medizin erfolgt im Munich Biotech Cluster m⁴ durch strategisch ausgerichtete, interdisziplinäre Kooperationen verschiedener biomedizinischer Disziplinen. (Siehe auch <http://www.cluster-bayern.de/spitzencluster/spitzencluster-m4/>)

Im Verbund „Personalisierte Medizin“ wurden insgesamt 20 Vorhaben von zehn KMUs (kleine und mittelständische Unternehmen) aus dem biotechnologischen Bereich, vier Pharmaunternehmen und vier Universitätskliniken bearbeitet. Allen Teilprojekten gemeinsam war die Erarbeitung innovativer Therapieansätze in Kombination mit neuen Biomarkern zur Patientenstratifizierung bzw. zum Monitoring.

Eines der Teilprojekte, das über den 5-Jahres-Zeitraum mit insgesamt mehr als einer halben Million Euro gefördert wurde, war die „BIOBANK der Blutspender“ des Blutspendedienstes des Bayerischen Roten Kreuzes (BSD).

WOZU BIOBANKEN?

In der therapeutischen Medizin vollzieht sich immer mehr ein Paradigmenwechsel vom Behandeln der Krankheitssymptome hin zur spezifischen und zielgerichteten Therapie und einer prädiktiven und auch präventiven Medizin. Hierbei spielen Biomarker eine bedeutende Rolle. Sie können Hinweise auf das Entstehen, das Fortschreiten oder den Behandlungserfolg bei einer Krankheit geben.

Je früher in der Entstehungsphase einer Erkrankung ein Biomarker auftritt, umso effizienter, erfolgsversprechender und kostengünstiger kann die Behandlung eingesetzt werden. Für die Erforschung derartiger früh auftretender Biomarker und die Entwicklung einer entspre-

chenden früh einsetzbaren Diagnostik bedarf es jedoch idealerweise humanen Probenmaterials von Patienten **vor der Diagnosestellung**. Um eine genügend große Anzahl von Patienten in einer definierten Ausgangspopulation zu identifizieren, wurden deshalb in den vergangenen Jahren weltweit prospektive Biobanken etabliert. Ziel dieser Biobanken ist es, eine gesunde Ausgangspopulation über viele Jahre zu verfolgen und in definierten zeitlichen Abständen eine Datenerhebung zum Gesundheitszustand durchzuführen so wie Blutproben von den Teilnehmern zu entnehmen und zu lagern. Da niemand vorhersagen kann, wann ein Biobankteilnehmer erkrankt, sind diese Biobankprojekte mit einem hohen Kostenaufwand verbunden und eine ausreichend große Anzahl an Erkrankungen ist erst in vielen Jahren zu erwarten. Derzeit ist auch nicht abzusehen, wie die „Compliance“ der Biobankteilnehmer über Jahrzehnte hinweg sein wird.

DIE „BIOBANK DER BLUTSPENDER“ DES BSD

Die „BIOBANK der Blutspender“ des BSD (BIOBANK) verfolgt unter den Biobanken einen innovativen Ansatz. Sie macht mit dem Einverständnis der Blutspender Blutproben aus dem regulären Blutspendeprozess verfügbar. Bei diesen Blutproben handelt es sich um sogenannte Nachuntersuchungsproben von Blutspendern (ca. 2 ml EDTA-Plasma), die anlässlich jeder Spende schnellstmöglich bei < -30 °C tiefgefroren aufbewahrt werden müssen. Sie dienen dem Nachvollziehen der zum Zeitpunkt der Spende vorgenommenen Untersuchungen auf



Infektionsmarker oder der Erhebung zusätzlicher Hinweise auf Infektiosität. Nach geltenden Richtlinien muss eine lückenlose Nachverfolgung der Blutspende und der daraus resultierenden Blutprodukte für den Zeitraum von mindestens einem Jahr über die Laufzeit der Blutkomponenten gewährleistet sein (in der Regel fünf Jahre).

Die Blutspender des BSD zeichnen sich durch eine hohe Spendertreue aus. Durchschnittlich kommt jeder Spender zweimal im Jahr zum Blutspenden und das in der Regel über viele Jahre hinweg. Die Lagerbedingungen (vollautomatisiertes -40 °C Kältelager; EDV gestützte Probenverwaltung) beim BSD sind deutschlandweit einzigartig und erlauben einen schnellen Zugriff auf die gelagerten Plasmaproben.

Um diese einzigartige Probenressource auch für Forschungszwecke zu nutzen, wurde 2006 die „BIOBANK der Blutspender“ gegründet. Damit wurden die regulatorischen Rahmenbedingungen (Voten der zuständigen Ethikkommission und des Datenschutzbeauftragten) geschaffen, um mit dem Einverständnis teilnehmender Blutspender Blutproben, die von Interesse für die medizinische Forschung sind, zur Verfügung zu stellen. Das heißt: Nach Ablauf der 5-Jahres-Frist für die Nachuntersuchungspflicht werden Plasmaproben, die von Blutspendern stammen, die ihr Einverständnis zur Teilnahme an der BIOBANK erteilt haben, nicht verworfen, sondern auf unbestimmte Zeit gelagert und können im Bedarfsfall für Forschungszwecke freigegeben werden.

Bereits zu Beginn verfügte somit die BIOBANK über eine vollständige Sammlung aller Plasmaproben, die von den Blutspendern in den vergangenen fünf Jahren gewonnen wurden und genutzt werden konnten. Schnell stieg auch die Anzahl an Blutspendern, die ihr Einverständnis zur Biobankteilnahme erklärten, auf 70 000. Von diesen Biobankteilnehmern lagerten zum damaligen Zeitpunkt ca. 750 000 Plasmaproben, die nun retrospektiv genutzt werden konnten. Die BIOBANK war damit zum damaligen Zeitpunkt nicht nur einer der größten Probensammlungen, sondern durch die Nutzung der vorhandenen Infrastruktur des BSD (Transport- und Lagerlogistik) eine Biobank, die mit wenigen Zusatzkosten kontinuierlich betrieben werden konnte und eine hohe Compliance der teilnehmenden Spender aufwies.

Von besonderem Interesse für die Erforschung von früh auftretenden Biomarkern sind die Blutproben von Blut-

spendern, die aufgrund einer diagnostizierten Erkrankung nicht mehr Blut spenden dürfen. Unter den registrierten 400 000 Blutspendern beim BSD betrifft dies jährlich ca. 2000 Spender. Da der durchschnittliche Spender über mehrere Jahre hinweg zweimal pro Jahr Blut spendet, lagert auch von diesen erkrankten Spendern eine Serie von Nachuntersuchungsproben, die zu einem Zeitpunkt entnommen und gelagert wurden, als der Spender offensichtlich noch gesund war. Weltweit zählte die „BIOBANK der Blutspender“ damit nicht nur von Beginn an zu den größten Biobanken, einzigartig war und ist heute auch noch, dass Forscher Zugriff auf serielle Blutproben haben, die aufgrund der regelmäßigen Blutspenden im Abstand von einigen Monaten und über mehrere Jahre hinweg von den Biobankteilnehmern gewonnen wurden. Die Entnahme, Weiterverarbeitung und Lagerung erfolgt dabei unter standardisierten Rahmenbedingungen, die auch Anwendung auf ein pharmazeutisches Produkt (Arzneimittel Blut) finden. Die BIOBANK war zudem auch die erste Biobank in Deutschland, die 2008 nach ISO 9001 zertifiziert wurde.

DIE BIOBANK ALS TEILPROJEKT DES SPITZENCLUSTERS M4

Zahlreiche Kundenanfragen bestätigten das Konzept der BIOBANK. Proben aus der BIOBANK wurden in der Vergangenheit bereits für Forschungsprojekte zur Früherkennung von onkologischen Erkrankungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Diabetes eingesetzt. Bei den Kunden handelte es sich um namhafte Diagnostik-Unternehmen, kleinere Biotech-Firmen, aber auch Forschungsgruppen an universitären Einrichtungen, sowohl national als auch international. Das Leistungsspektrum der BIOBANK wurde demnach von Beginn an gut angenommen.

Andererseits konnten auch zahlreiche Kundenanfragen aufgrund bestehender Limitationen nicht bedient werden. Im Rahmen des fünfjährigen Förderzeitraums des Spitzenclusters m⁴ sollte deshalb das initiale Modell der BIOBANK unter Berücksichtigung der bisherigen Erfahrungen in der operativen Umsetzung von Kundenprojekten neu konzeptioniert werden, um einen bedarfsgerechten Zugang zu den Proben und Daten, die die BIOBANK zur Verfügung stellt, zu gewährleisten und damit die BIOBANK wirtschaftlicher und auch nachhaltiger aufzustellen.

Dabei sollten insbesondere nachfolgende Einschränkungen überwunden werden:

Begrenzte Anzahl und Menge an Probenmaterial, das nach den Vorgaben des Blutspendewesens entnommen und gelagert wird.

Dadurch, dass sich die Prozesse der Probenentnahme und Probenlagerung strikt nach den Vorgaben des Blutspendewesens richten, sind Probenvolumina und Aliquotanzahl limitiert. Die Lagerlogistik des Blutspendewesens ist zudem auf Datum und Ort der Spende ausgerichtet.

Die Biobankproben waren deshalb zunächst physisch nicht getrennt von dem gesamten Probenpool der Nachuntersuchungsproben gelagert. Eine Kennung im Lagerinformationssystem gab Auskunft darüber, ob es sich um eine Plasmaprobe eines Biobankteilnehmers handelte oder nicht. Plasmaproben von Biobankteilnehmern, die zwischenzeitlich aufgrund einer Erkrankung nicht mehr Blut spenden durften, waren an unterschiedlichen Lagerplätzen im Tiefkühlager des BRK Blutspendedienstes eingelagert.

Gerade die Proben von erkrankten Blutspendern waren und sind auch heute noch die besonders wertvollen Proben, um früh auftretende Biomarker zu erforschen. Begehrte Probenaliquote, wie zum Beispiel Proben von Blutspendern, die später an Darmkrebs erkrankten, wurden von Beginn an häufig angefragt. Da beim BSD kein Auftau-Einfrier-Prozess erfolgt, sondern bei Anfrage immer das komplette Probenaliquot ausgelagert wird, waren solche Proben schnell vergeben. Der Einsatz von High-Throughput-Technologien in der Forschung erlaubt es jedoch, deutlich weniger Probenmaterial einzusetzen.

Zudem benötigte die Auslagerung mehrerer Proben eines Biobankteilnehmers aufgrund der bestehenden Lagerlogistik einen erheblichen Zeitaufwand, da die Lagerlogistik beim BSD darauf ausgerichtet ist, auf eine einzelne Probe schnell zugreifen zu können.

Mit Hilfe der Spitzenclusterförderung sollte deshalb die bestehende Infrastruktur der BIOBANK neukonzipiert, mehr nach den Bedürfnissen der Kunden ausgerichtet und ein indikationsselektiertes Biobank-Probenlager implementiert werden.

Der BRK Blutspendedienst erhält Kenntnis über die Erkrankung eines Spenders nach dem Zufallsprinzip und die gespeicherten Daten genügen oft den Ansprüchen der anfordernden Biomarkerforscher nicht

Die Aufgabe des Blutspendedienstes ist es, die Versorgung der Kliniken und Praxen in Bayern mit Blutprodukten sicherzustellen. Die Öffentlichkeitsarbeit des BSD ist darauf ausgerichtet, ausreichend gesunde Spender und vor allem auch jüngere Spender zu gewinnen und an sich zu binden. Das Ziel der Spenderselektion wirkt demnach dem Ziel der BIOBANK, unter den Spendern diejenigen zu identifizieren, bei denen eine für die Biomarkerforschung relevante Erkrankung eintrat, entgegen. Kenntnis über eine Erkrankung des Spenders erhält der Blutspendedienst entweder, wenn ein Spender zum nächsten Spendettermin eingeladen wird und dieser aktiv darüber informiert, dass er aufgrund einer Erkrankung nicht mehr Blut spenden kann, oder wenn ein Spender beim Spendettermin im Zuge der ärztlichen Eignungsuntersuchung, die vor jeder Spende stattfindet, als nicht spendefähig eingestuft wird aufgrund einer aktuellen oder zurückliegenden Krankheit. Die Information der „Nichtspendefähigkeit“ wird beim Blutspendedienst elektronisch erfasst, um die Sicherheit des Spenders und auch des Blutproduktes zu gewährleisten. Die Art der Erkrankung wird jedoch aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht näher spezifiziert.

In einem weiteren Arbeitspaket der Projektförderung sollten deshalb Spender gezielt über die BIOBANK informiert werden, um eine aktive Rückmeldung bei Eintritt einer



Abbildung 1: –86 °C Biobank-Probenlager

Erkrankung zu geben. Insbesondere bei Spendern, die entweder die zugelassenen Spenderaltersgrenze von 69 Jahren überschritten haben, oder ehemals regelmäßige Blutspender, die seit geraumer Zeit nicht mehr zum Spenden erschienen sind, konnte davon ausgegangen werden, dass durch diese Kontaktaufnahme und Information über die BIOBANK die Anzahl der erkrankten Spender unter den Biobankteilnehmern gesteigert werden kann.

Zudem sollten im Zuge oder zeitnah nach Erhalt der Einverständniserklärung zur Teilnahme an der BIOBANK relevante soziodemographische Daten des Biobankteilnehmers und auch medizinische Daten zur angegebenen Erkrankung erfasst und in der BIOBANK Datenbank gespeichert werden.

ERGEBNISSE

a. Implementierung eines indikationsselektierten Probenlagers

Unter den mehreren Millionen Proben, die im Zentrallager des BSD lagern, werden Proben von Biobankteilnehmern mit spezifischen Erkrankungen (z. B. Krebs, Diabetes etc.) identifiziert und für eine schnellere Zugänglichkeit in einem für die BIOBANK separaten Bereich gelagert.

Während der ersten Förderphase wurden die strukturellen Voraussetzungen geschaffen, um relevante Plasmaproben zu charakterisieren und in geeignete Aliquots

zu verteilen. Speziell wurde ein neues -86 °C Kühllager für die „BIOBANK der Blutspender“ fertiggestellt und im Januar 2013 in Betrieb genommen. Die Fertigstellung des Kühllagers (siehe **Abbildung 1**) beinhaltete die Installation und Testung der Gefriersysteme, 2D-Code Lagerungsgefäße und Computer/Scanner-Hardware. In der ersten Förderperiode wurden diese Systeme, insbesondere die Lagerverwaltungssoftware ausführlich validiert und in Betrieb genommen. Um eine hohe Qualität der Proben und der Daten für die forschende Industrie zu gewährleisten, wurde zudem eine neue Qualitätsmanagement Prozedur implementiert. Die Form der Lagerung ermöglicht eine schnellere Zugriffsmöglichkeit, ist raumsparend, energieeffizient und damit eine wirtschaftlich günstige und nachhaltige Lagerlösung. Die Einrichtung des Lagers erwies sich als essentiell, um Kunden Proben schneller, in besserer Qualität und in verschiedenen Volumina anbieten zu können.

Im operativen Betrieb der Biobank werden nun Biobankteilnehmer mit relevanter Erkrankung identifiziert und deren vorhandene Proben aus dem Zentrallager ausgelagert, in mehrere Aliquots pipettiert und in das Biobank-Lager eingelagert – dazu alters- und geschlechts-gematchte Proben von gesunden Biobankteilnehmern.

Zum Ende der Förderperiode waren bereits über 6500 erkrankte Spender registriert und ca. 25 000 Proben umgelagert.

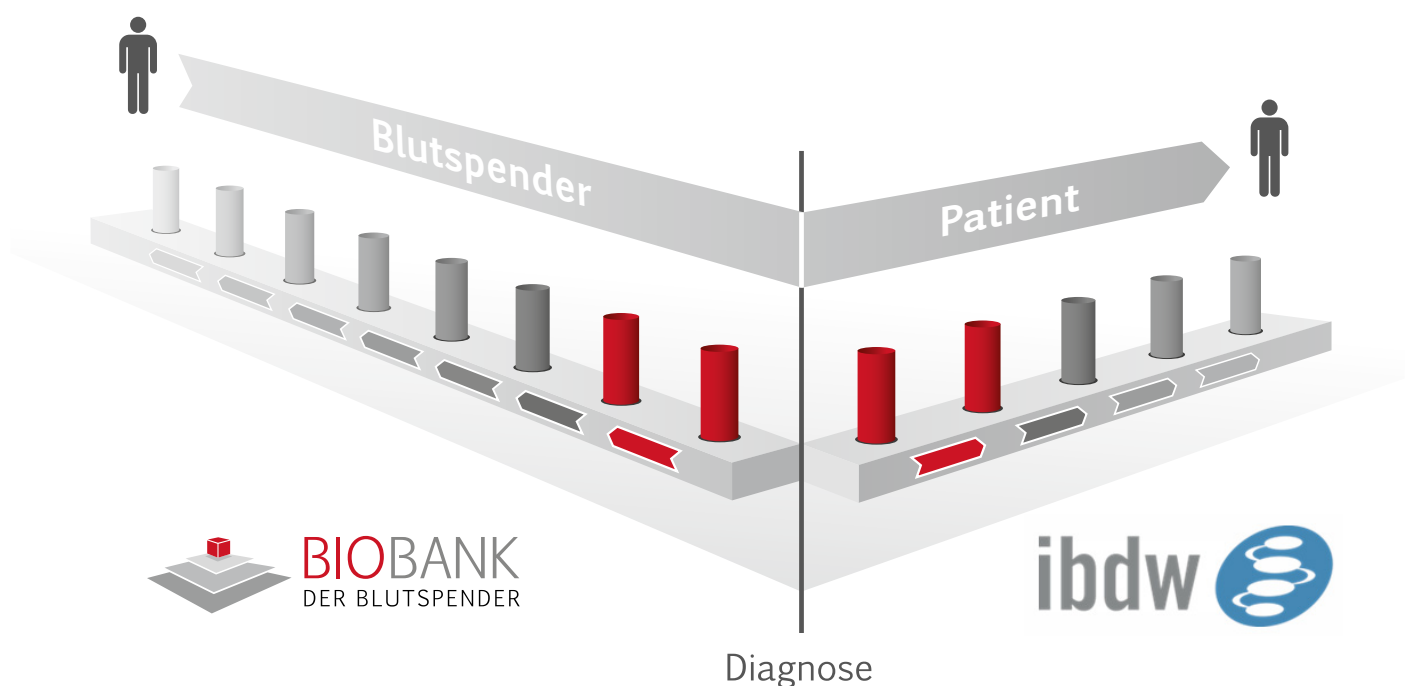


Abbildung 2: Komplettierung der Proben- und Datensammlung bei ibdw und BIOBANK der Blutspender

b. Medizinische Validierung der indikationsselektierten Proben und gezieltes Follow-Up von gesunden Biobankteilnehmern

Die Validierung der medizinischen Daten von erkrankten BIOBANK-Teilnehmern ist essentiell um die assoziierten Proben sinnvoll nutzen zu können. Die Validierung erfolgt gewöhnlich durch Kontaktaufnahme mit den auf der Einverständniserklärung angegebenen behandelnden Ärzten. Über standardisierte Fragebögen oder Befundberichte werden die für ein Forschungsprojekt erforderlichen medizinischen Parameter erhoben. Im Förderzeitraum wurden primär Fälle von spezifischen Krebserkrankungen und Fälle von Multipler Sklerose, entzündlichen Darmerkrankungen und Diabetes validiert, da für diese Proben ein besonders hohes Interesse von Seiten der Biomarkerforschung besteht. Die Erfahrung aus diesen Arbeiten zeigte, dass die beteiligten Ärzte i. d. R. mit der BIOBANK zusammenarbeiten. Dieser Prozess ist nun standardisiert und erfolgt fortlaufend.

Zur Validierung eines potentiellen Prädiabetes wurden 835 Blutspender angeschrieben. Diese Spender waren zuvor aufgrund einer in einem Fragebogen einer Gesundheitsstudie von 2008 (Diabetes-Studie des BSD/BRK) angegebenen Diabeteserkrankung als Fallgruppe kategorisiert. Diabeteserkrankungen sind für die „BIOBANK der Blutspender“ von besonderem Interesse, da eine hohe Nachfrage in der pharmazeutischen Industrie an Proben dieser Erkrankungsgruppe besteht. Weitere 800 Blutspender aus der Diabetes-Studie, bestehend aus gesunden und an Typ-2 Diabetes erkrankten Spendern sowie Spendern mit einer Prädisposition für diese Erkrankung, wurden mit Hilfe eines Fragebogens nach ihren Gesundheitsverlauf, Lifestyle-Faktoren, Ernährungsgewohnheiten und Raucherstatus befragt. Zusätzlich angeschrieben wurden u. a. 2837 Blutspender, die früher regelmäßig zum Blutspenden kamen und nun auffällig lange nicht mehr beim Blutspenden waren und mehr als 5000 Blutspender, die aufgrund einer schwerwiegenden Erkrankung vom Blutspenden ausgeschlossen wurden. Ein Großteil der über 70 000 bei der BIOBANK registrierten Blutspender wurde zudem bei neuen Blutspendeterminen über Ihren Gesundheitszustand erneut persönlich

befragt. Zusammen führten die Aktionen zu dem Ergebnis, dass aktuell in der Biobank knapp 1700 Biobankteilnehmer mit ärztlich validierten medizinische Datensätzen registriert sind und von über 500 weiteren soziodemographische Daten vorliegen.

Netzwerke

Es gab mehrere Initiativen, die „BIOBANK der Blutspender“ strategisch und logistisch mit Dritten zu verknüpfen, um eine bessere Struktur und einen größeren Pool an erkrankten Spendern zu gewährleisten.

Als Leuchtturmprojekt gilt hier insbesondere die Zusammenarbeit zwischen der „BIOBANK der Blutspender“ und der Interdisziplinären Biomaterial- und Datenbank der Würzburger Universitätsklinik (ibdw). Die Zusammenarbeit mit der ibdw soll die Probensammlung in der BIOBANK komplettieren: Erkrankt ein Spender, der in der „BIOBANK der Blutspender“ registriert ist, an einer komplexen Erkrankung (z. B. Diabetes, Herzschwäche oder Krebs) und kommt deshalb an die Universitätsklinik, stehen den Forschern dort aus der „BIOBANK der Blutspender“ im Idealfall Plasma-Probenserien aus mehreren Jahren zu Verfügung, bevor der Patient erkrankt war (**Abbildung 2**). Umgekehrt bekommt die „BIOBANK der Blutspender“ neue Patientenkollektive und kann dadurch größere Studienanfragen aus der Industrie besser nachverfolgen.

Dieses Projekt wurde besonders auch deswegen initiiert weil mit der ibdw ein zentrales Element der "Nationalen Biomaterialbanken Initiative" des BMBF als ein starker Partner zur Verfügung steht. Ähnliche Zusammenarbeiten sind jedoch auch mit anderen Einrichtungen, z. B. weiteren Unikliniken und/oder geriatrischen Einrichtungen geplant.

Das von der TMF (Technologie- und Methodenplattform für die vernetzte medizinische Forschung e. V.) geförderte Kooperationsprojekt sieht vor, generische Konzepte zu entwickeln, die auf andere Biobankmodelle übertragen werden können.

Die Autorin



Dr. Silke Martin

Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes
gemeinnützige GmbH
s.martin@blutspendedienst.com