

# Erythrozytenkonzentrate aus Stammzellen

Eine Vision soll wahr werden: Erythrozyten aus der Retorte

## Zusammenfassung

Die Vision, aus Stammzellkulturen eine Blutversorgung mit Erythrozytenkonzentraten zu ermöglichen, rückt in den Bereich der Machbarkeit. In Kultur erzeugte Erythrozyten könnten z. B. helfen, Versorgungslücken bei Pandemien zu schließen und die Infektionssicherheit zu vergrößern. Auch enthalten sie, anders als konventionelle EK, ausschließlich junge Erythrozyten. Mögliche weitere Qualitätsverbesserungen liegen bei chronisch transfundierten Patienten mit anti-erythrozytären Antikörpern, die z. B. mit autologen expandierten EK versorgt werden könnten. Auch birgt die gezielte Expression bestimmter Hämoglobine (z. B. Hämoglobin F) neue Möglichkeiten in der Optimierung der Sauerstoffversorgung für bestimmte Patienten. Eine große Herausforderung stellt derzeit noch die technische Lösung der Expansion im großen Massstab im Bioreaktor dar.

## Summary

The vision of a blood supply by culture-expanded red cells (RBCs) is moving closer to reality. Culture-expanded blood cells might help to overcome risks in blood supply in cases of pandemia, increase infection safety, and could help to improve the situation in allo-sensitized chronically transfused patients. Also, expanded red cells are young, other than donated RBCs with an average age of 50–60 days. Expression of alternative hemoglobin forms such as HbF could be useful e. g. for intrauterine transfusions. The greatest challenge in the field is currently the adaptation of the expansion process to large scale production.

## EINFÜHRUNG

Forschung und Entwicklung der Biologie der blutbildenden Stammzellen gingen vor allem aus der weltweit initiierten Strahlenforschung im Gefolge des zweiten Weltkriegs hervor. Nachdem in den 1950er und 1960er Jahren die Existenz transplantierbarer blutbildender Stammzellen mit Hilfe der Knochenmark-Transplantation im Tiermodell belegt werden konnte, waren es vor allem die Studien von Pike und Robinson (1970)<sup>1</sup> und weiteren, die erstmals das Wachstum und die Differenzierung blutbildender Zellen aus Stammzellen in vitro ermöglicht haben. Nachdem das Erythropoetin als einer der ersten in diesen Systemen effizienten Kolonie-stimulierenden Faktoren (CSF) identifiziert und rekombinant hergestellt wurde, gelang es Anfang der 1990er Jahre mit Hilfe neu entdeckter, mit den CSFs synergistisch wirkender Faktoren wie dem Stammzellefaktor (SCF), aus einer einzigen Stamm- oder Vorläuferzelle der Erythropoese über 100.000 Tochterzellen in Kultur zu erzeugen. Seither beschäftigen sich weltweit mehrere Forschungsgruppen mit der weiteren Verbesserung von Bedingungen für die Proliferation und Differenzierung erythrozytären Zellen aus Stamm- oder Vorläuferzellen. Hierzu zählen unter anderen diejenigen von Professor Giovanni Migliaccio am Istituto Superiore di Sanità in Rom und von Professor Luc Douay am Hospital St. Antoine in Paris. Wichtige Fortschritte dieser Arbeiten waren vor allem folgende Entwicklungen und Erkenntnisse:

- Die rote Blutzellbildung in vitro gelingt wesentlich besser in serumfreien Medien als in Anwesenheit von Serum.
- Die Entfernung der Kerne („E nukleation“) aus den Vorstufen ist ein kritischer Schritt, der durch Makrophagen (Fresszellen) oder sog. Stromazellen bewerkstelligt werden kann.
- Auch noch nicht ganz reife Zellen (z. B. Normoblasten) sind effizient transfundierbar und reifen in Tiermodellen in vivo zu funktionsfähigen Erythrozyten aus.

Diese wichtigen Ergebnisse bildeten die Voraussetzung für weitere große Anstrengungen, die Vision der Erzeugung von Erythrozyten im Reagenzglas Wirklichkeit werden zu lassen – also von Erythrozytenkonzentraten (EK), die ständig verfügbar sind, die sicher sind, steril, und extensiv serologisch und molekular charakterisiert.

Die vorliegende Übersicht möchte die bisher zurückgelegten Meilensteine auf diesem Weg beschreiben und die noch bestehenden Herausforderungen und auch die potentiellen Einschränkungen auf diesem Weg darstellen. Ganz bewusst möchten wir zuvor auch die vielen neuen Möglichkeiten ins Zentrum der Betrachtung stellen, die solche Präparate gegenüber der Versorgung von Transfusionsempfängern mit herkömmlichen EK bieten sollten. Diese bilden sicherlich bereits jetzt einen wesentlichen treibenden Faktor in der Verwirklichung der Vision

einer sich immer stärker entwickelnden Versorgung mit aus Stammzellen erzeugten EK.

## NEUE MÖGLICHKEITEN IN DER VERSORGUNG VON TRANSFUSIONSEMPFÄNGERN MIT EK

### In vitro erzeugte EK zur Verringerung von Risiken in der Blutversorgung

Da in vitro erzeugte EK (und weitere Blutkomponenten) unabhängig von der kontinuierlichen Blutspendetätigkeit hergestellt werden können, ist zu erwarten, dass potentiellen einschneidenden Unterbrechungen der Blutversorgungskette durch massive Spendersperren (z.B. Pandemien, grössere Epidemien) durch die in vitro Expansion entgegengewirkt werden kann. So können nicht infizierte gespendete, tiefgefrorene Stammzellen aus der Zeit vor einer Epidemie als Grundbaustein der EK Versorgung dienen. Alternativ könnten von negativ getesteten Spendern Stammzellen, oder z.B. reprogrammierte somatische Zel-

len als infektiologisch sicheres Ausgangsmaterial dienen. Des Weiteren könnten die derzeit bestehenden demographischen Entwicklungen zu Schwierigkeiten oder Rückgängen in der Senderrekrutierung führen. Hinzu kommt, dass eine ausreichende Blutversorgung in großen Teilen der Welt auf dem konventionellen Wege heute nicht sichergestellt ist. In Bezug auf alle diese Punkte bergen in vitro hergestellte EK ein signifikantes Weiterentwicklungspotential für die Hämotherapie. Letztlich ist auch zu bedenken, dass insbesondere bei weiterhin steigendem Aufwand in der Rekrutierung von freiwilligen Blutspendern neuartige Blutprodukte, die in vitro nach Bedarf aus Stammzellen produziert werden können, erhebliche logistische Vorteile in der Blutversorgung aufweisen können und am Ende der Entwicklung mit einiger Sicherheit auch ökonomisch konkurrenzfähig sein dürften.

Weitere zu erwartende Innovationen und Verbesserungsmöglichkeiten durch eine Einführung der Versorgung mit in vitro aus Stammzellen expandierten EK sind (siehe auch **Tabelle 1**):

Weiterentwicklungsmöglichkeit	Umsetzung in der Versorgung
Verringerung von Risiken in der Blutversorgung	Versorgung z. B. bei Pandemien mit hohen Spenderausschlussraten
Verlängerung der Lebensdauer der transfundierten Erythrozyten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduktion der Zahl der nötigen EK Transfusionen bei chronisch substituierten Patienten</li> <li>• Reduktion der Eisenüberladung</li> </ul>
Flexibler anpassbare Vorräte von EKs für Patienten mit Antikörpern mit hochfrequent exprimierten Antigenen	statt Einbestellung speziell typisierter Spender vermehrt Versorgung aus vorproduzierten EK, bei sehr seltenen Phänotypen tiefgefrorene EK, ansonsten Versorgung z. B. über 1-2 Produktionszentren für Europa
Autologe EK aus Stammzellen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• zur Versorgung chronisch transfusionsbedürftiger vorsensibilisierter Patienten, aus einer Stammzellentnahme</li> <li>• Vermeidung der Sensibilisierung und evtl. Hämolyse</li> </ul>
EK mit alternativen Hämoglobinen	z. B. HbF exprimierende EK zur intrauterinen Transfusion
Versorgung der Bevölkerung mit steigender ethnischer Diversität	in Regionen mit erhöhtem Anteil von Migranten aus anderen Erdteilen: Produktion von Erythrozyten aus Stammzellen aus ethnisch diversen Spenderrepertoires (immunologisch relevante Phänotypen)
Vereinfachte Logistik der Grundversorgung mit EK	bei Komplettversorgung eines Gebietes mit expandierten EK z. B. Vorhaltung/bedarfsgerechte Produktion von EK aus 11 Stammzelllinien zur Gesamtversorgung
Globale Verbesserung des Zugangs zu EK und weiteren Blutkomponenten	bei ökonomischer Produktion und akzeptablen Preisen: vermehrter Zugang zu Blut für bedürftige Patienten in Regionen ohne konventionelle Blutversorgung

**Tabelle 1: Möglichkeiten der Verbesserung der Versorgung durch in vitro expandierte EK.**

## **Verlängerung der Lebensdauer von Erythrozyten**

Nach der Erwartung und allen bisher vorliegenden Daten werden in den EK-Kulturen praktisch ausschliesslich frische Erythrozyten erzeugt, die also keine Alterungserscheinungen aufweisen. Im Gegensatz hierzu sind in Blutspenden gewonnene Erythrozyten natürlicherweise im Schnitt 50-60 Tage alt. Durch die höhere Lebenserwartung der transfundierten Erythrozyten ist ein länger anhaltender Effekt der Transfusionen zu erwarten. Bis heute ist jedoch nicht geklärt, welche durchschnittliche Überlebenszeit in vitro erzeugte Erythrozyten nach Transfusion besitzen. Die erste Anwendung in vitro mit traditionellen Kulturmethoden expandierten Erythrozyten am Menschen von ca. 2 ml EK, publiziert 2011<sup>2</sup>, zeigte ein mit Erythrozyten aus konventionellen EK vergleichbares Überleben dieser in vitro aus Nabelschnurblut-Stammzellen generierten radioaktiv markierten Erythrozyten. Dies belegte zunächst die in dieser Hinsicht international geforderte Minimalanforderung an die pharmazeutische Qualität. In der weiteren Entwicklung ist zu erwarten, dass die durchschnittlichen in vivo Überlebenszeiten in vitro generierter Erythrozyten bei einem unter optimalen Bedingungen hergestellten klinischen Präparat länger sein werden. Durch die Gabe unverbrauchter junger Erythrozyten sollte, vor allem bei chronisch substitutionsbedürftigen Patienten, durch die zu erwartende geringere Zahl notwendiger Transfusionen auch eine Verringerung der Zahl der notwendigen Transfusionen, und auch Eisenüberladung erreicht werden.

Ein Mechanismus der physiologischen Elimination von Erythrozyten beinhaltet die Interaktion des „signal regulating protein (SIRP)-1 alpha“-Moleküls auf Phagozyten mit dem auf Erythrozyten exprimierten CD47 Rezeptor<sup>3</sup>. Durch genetische Manipulation könnte auch versucht werden, die Expressionsstärke des CD47 Rezeptors zu erhöhen, und die Überlebenszeit transfundierter Erythrozyten ggf. zu verlängern. Besonders bei chronisch transfundierten könnte so der allfälligen Eisenüberladung ggf. entgegengewirkt werden.

## **Vereinfachte Logistik der Grundversorgung mit EK**

Für mögliche Sensibilisierungen der Empfänger werden eine Vielzahl von erythrozytären Antigenen und ihre entsprechenden Varianten verantwortlich gemacht. Für die Allgemeinheit der zu versorgenden Patienten kann daher eine Versorgung mit EK etwa der Blutgruppe 0, Rh D negativ (z.B. 0 cc..ee K-), sicherlich nicht ausreichend sein. Für den Fall der Versorgung eines Gesamt-Patientenkollektivs ausschliesslich mit ex vivo expandierten EK haben

Peyrard et al.<sup>3</sup> kalkuliert, dass >99% aller Patienten, inklusive solcher, die bereits gegen erythrozytäre Antigene immunisiert sind, mit expandierten Erythrozyten aus 3 verschiedenen Stammzelllinien versorgt werden könnten. Sie errechneten anhand der Daten von über 16.000 sensibilisierten Patienten der französischen Hämovigilanzdatei, dass mit EK aus 15 Klonen die Versorgung der Patienten in Frankreich zu 100% abgedeckt werden könnte.

## **Flexibel anpassbare Vorräte von EKs für Patienten mit Antikörpern mit hochfrequent exprimierten Antigenen**

In den Fällen von Patienten, die sog. hochfrequente erythrozytäre Antigene nicht exprimieren und durch Vortransfusionen gegen ein solches Antigen Antikörper erworben haben, wie anti-k anti-Vel oder anti-Ge, gestaltet sich die Versorgung mit EK teilweise schwierig oder sehr schwierig. In Zukunft könnten solche Patienten mit vorgelagerten (z.B. kryokonservierten) aus Stammzellen oder reprogrammierten somatischen Zellen (iPS)-abgeleiteten EK entsprechend kompatibler Stammzellspender versorgt werden. Alternativ könnten, wenn die Zeit es erlaubt, individuell aus Stammzell-Eigenspenden hergestellte EK für die Versorgung in Frage kommen (siehe unten).

## **Versorgungsmöglichkeiten für chronisch transfusionsbedürftige Patienten**

Patienten mit chronischem Transfusionsbedarf erhalten derzeit nach Möglichkeit weitergehend oder weitgehend auf erythrozytäre Antigenmuster ausgetestete EK, um die potentielle – und bei einigen Patienten klinisch bedrohliche – Bildung multipler Antikörper gegen erythrozytäre Antigene möglichst zu vermeiden oder zu kontrollieren. Für dieses Patientenkollektiv bieten sich expandierte EK als Alternative in besonderer Weise an. Gewissermassen das Idealpräparat, um die Immunisierung auf einem Minimum bzw. Null zu halten, dürften in immunologischer Hinsicht autologe EK darstellen. Homologe Spender kommen vermutlich ebenfalls in Frage, da sie in Bezug auf die Übereinstimmung der relevanten erythrozytären Antigene weitgehend vorcharakterisiert werden können, und die Exposition der Empfänger mit neuen Antigenen durch die enge Vorauswahl vermutlich in weit engeren Grenzen gehalten werden kann als derzeit.

## **Ausstattung expandierter EK mit alternativen Hämoglobinen**

Vor allem für chronisch transfusionsbedürftige Patienten könnte die Ausstattung der in jüngster Zeit erst entwickelten Verfahren zur Erzeugung von EK aus pluripotenten und embryonalen Stammzellen mit fötalem Hämoglobin (HbF) von Bedeutung sein. Die schnellere Aufnahme

von Sauerstoff und die langsamere Sauerstoffabgabe könnten genutzt werden, um die therapeutische Effizienz der EK z.B. bei Intensivpatienten oder Patienten mit Lungenschäden und vermindertem Sauerstoffaustausch zu erhöhen. Im Rahmen von „genetic engineering“ wäre auch denkbar, weitere, ggf. genetisch alterierte Hämoglobine mit gewünschten therapeutischen Eigenschaften in den EK zu exprimieren und zum klinischen Einsatz zu bringen.

### Versorgung der Bevölkerung mit steigender ethnischer Diversität

Die zunehmende Migration und der dadurch bedingten wachsenden ethnischen Divergenzen in der heutigen Bevölkerung, sowohl in den sogenannten klassischen Industrieländern, aber auch in Schwellenländern und den weiter entwicklungsbedürftigen Regionen der Erde, stellen die klinische Immunhämatologie vor zunehmende und besondere Herausforderungen in Bezug auf Sensibilisierungen durch auf Erythrozyten exprimierte Antigene. Ge-

genüber der herkömmlichen Versorgung mit EK aus Blutspenden eröffnet eine zusätzliche Versorgungslinie mit Kultur-expandierten Erythrozyten sicherlich auch bessere Abdeckungen von Patienten jeweiliger ethnischer Minoritäten im Versorgungsgebiet.

### Globale Verbesserung des Zugangs zu EK und weiteren Blutkomponenten

Selbstverständlich hat die veränderte Logistik der Versorgung im Falle von aus Stammzellen expandierten, durch Blutspendedienste oder komplett industriell hergestellten EKs erhebliche Konsequenzen für den Zugang zu Blutprodukten sich entwickelnder Länder. In vielen dieser Regionen existieren bis heute keine oder kaum Blutspendedienste, oder es gelingt den existierenden Diensten nur ungenügend, ausreichend Spender zu rekrutieren um qualitativ und quantitativ ausreichend und für alle zugängliche Blutprodukte anzubieten. Wenn es gelingt, die Herstellung ex vivo expandierter EK und evtl. Thrombozytenkonzentrate technisch und ökonomisch in den

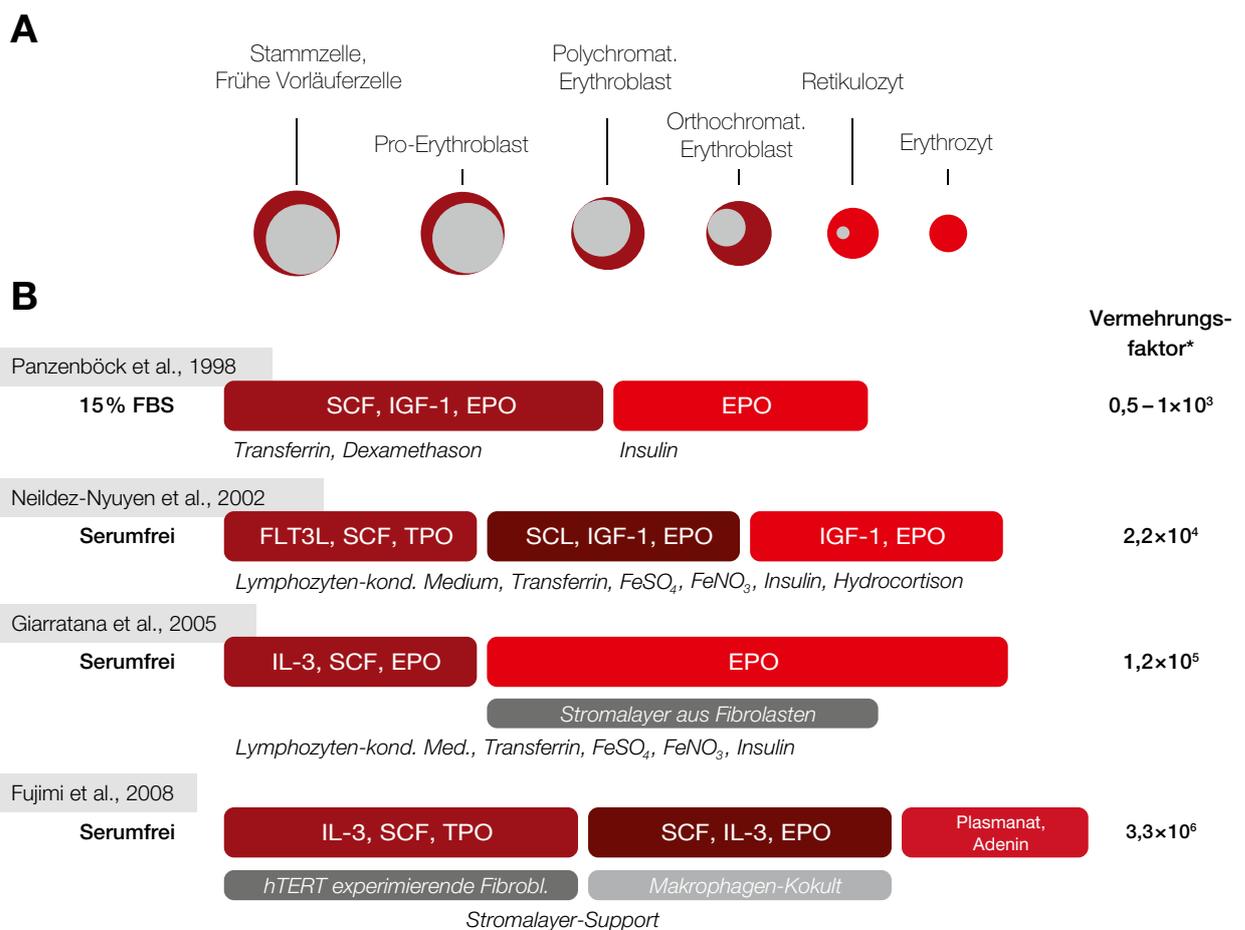


Abbildung 1

Erythrozytäre Differenzierung aus hämatopoetischen Stammzellen. (A) Morphologische Differenzierungsreihe, (B) Meilensteine in der Entwicklung von Kulturbedingungen zur Ausreifung kernloser erythrozytärer Zellen aus humanen Stammzellen. Die Zeitachse verläuft von links nach rechts und umfasst jeweils ca. 18–24 Tage (nicht maßstäblich). Der Vermehrungsfaktor pro eingesetzter aus CB-SC hat sich in 10 Jahren um 3 Log Stufen verbessert. Plasmanat und Adenin sind Zusätze, die reife Erythrozyten stabilisieren. Übernommen und angepasst aus<sup>6</sup>.

Griff zu bekommen, könnten die Voraussetzungen für einen besseren Zugang zu Blutprodukten in vielen Ländern entschieden verbessert werden. Selbstverständlich ist klar, dass zunächst mit relativ hohen Kosten für die neuen Blutprodukte gerechnet werden muss. Dennoch wagen wir zu spekulieren, dass sowohl die Häufigkeit der Anwendung von Blutkomponenten, und die einzusparenden Kosten der Spenderrekrutierung, Entnahme und konventionellen Bereitstellung, die dem gegenüberstehen, letztlich die weltweite Durchsetzung der artefiziell hergestellten Blutpräparate begünstigen sollten. Obwohl als Vergleich vielleicht nur bedingt geeignet, sollte die Entwicklung z. B. beim rekombinanten Gerinnungsfaktor VIII und anderen ähnlichen Plasmaprodukten den Weg hierzu und die prinzipielle Entwicklungsmöglichkeit aufzeigen.

## STAND DER TECHNISCHEN UND KLINISCHEN UMSETZUNG

### Kulturprotokolle

Der Differenzierungsverlauf von der hämatopoetischen Stammzelle oder von primitiven Progenitorzellen bis zum reifen Erythrozyten, sowie Beispiele für wesentliche Faktoren auf diesem Weg sind in **Abbildung 1** dargestellt. Hieraus geht hervor, dass Stammzellen zunächst durch Stammzellfaktor und FLT3 Ligand (FL) und sog. kolonie-stimulierenden Faktoren zur Proliferation angeregt werden können. Ein weiterer nützlicher Faktor ist der Insulinartige Wachstumsfaktor (IGF)-1. Beim Erythropoetin, das ursprünglich bereits in frühen Phasen den Differenzierungskulturen zugesetzt wurde, wurde später erkannt, dass es erst in mittleren und späteren Reifungsphasen notwendig ist. Eine wichtige Rolle vor allem beim Eukleationsprozess (d. h. dem Ausstoss der Zellkerne) spielen Stromazellen, entweder in Form von Makrophagen oder von Stromazellinien (**Abbildung 1**). Mit Eisen beladenes Transferrin stellt die Bildung intakten Hämoglobins aus den in den kernhaltigen Vorstufen synthetisierten Hb-

Einzelketten sicher. Der Zusatz von Stoffen wie Adenin, das reife Erythrozyten stabilisiert, ist ebenfalls ein Schritt auf dem Weg zu einem fein abgestimmten Prozess, der eine möglichst synchrone und effiziente Proliferation der Stammzellkulturen und eine koordinierte Differenzierung zu möglichst reifen Erythrozyten darstellt. Diese Protokolle ermöglichen bis dato, in statischen Kultursystemen, pro eingesetzter Stamm- oder Progenitorzelle bis zu  $3 \times 10^6$  Tochterzellen zu erzeugen.

### Stammzellquelle

Eine weitere Frage ist, welche Stammzellen für die Generierung von EK geeigneten Ausgangszellen darstellen. Bisher wurden im Wesentlichen sog. Periphere Blutstammzellen (PBSC), Nabelschnurblut-Stammzellen (CB-SC), induzierte pluripotente Zellen (iPS Zellen) oder embryonale Stammzellen (ESC) auf ihr erythropoetisches Differenzierungspotential untersucht, und kommen als Stammzellquelle in Frage (**Tabelle 2**). Während bei den PBSC oder CB-SC rechnerisch pro Stammzelle ca.  $10^5$ – $10^7$  reife Erythrozyten oder erythrozytäre Zellen generiert werden konnten, ist der Expansionsfaktor bei den pluripotenten Zellen wesentlich höher, da sie in Kultur ja bereits als Stammzellen über viele Generationen vermehrt werden können, bevor mit einer entsprechend größeren Zahl von Stamm- und evtl. Progenitorzellen dann die Differenzierung eingeleitet werden kann. Für die Generierung eines EK (es enthält ca.  $2 \times 10^{12}$  Erythrozyten) müssen in der Größenordnung von  $10^6$  bis  $10^7$  adulte oder aus Nabelschnurblut gewonnene hämatopoetische Stammzellen (HSC) eingesetzt werden. Anhand der bekannten Zahlen von z. B. CD34+ Zellen, die pro Patient z. B. nach Mobilisierung mit G-CSF gewonnen werden können, könnte hier absehbar lediglich eine endliche Zahl Präparate (im Bereich von wahrscheinlich ca. 2–20 EK/Spende) generiert werden. Die ersten im Menschen transfundierten und auf ihre Überlebensfähigkeit hin 2010 getesteten ex vivo generierten Erythrozyten stammten aus peripherem Blut<sup>2</sup>.

Stammzellart	Quelle	Zahl Erythrozyten/ Ausgangszelle
PBSC	Peripheres Blut	≈ $10^5$
CB-SC	Nabelschnurvene	≈ $10^6$ – $10^7$
iPS Zellen	Viele Gewebe, auch Blut und Nabelschnur	Nach Bedarf adjustierbar, da als Stammzellen expandierbar
ESC*	Embryonen	

**Tabelle 2: Stammzellarten als Ausgangszellen für die in vitro Generierung von EK**

\* in Deutschland beschränkt auf wenige Linien, Sondergenehmigungen erforderlich

Auf zwei Wegen könnte die derzeit endliche Proliferationskapazität der PBSC und CB-SC in den Kulturen erweitert werden: Zum einen durch eine sogenannte Reprogrammierung von HSC, zum anderen durch die Generierung von immortalisierten HSC- oder Progenitorzelllinien. Zu beidem gibt es erste grundlegende Arbeiten: Eine japanische Arbeitsgruppe beschrieb z. B. eine immortalisierte erythrozytäre Vorläuferzelllinie, die einerseits undifferenziert proliferieren kann, andererseits gezielt zu Erythrozyten ausdifferenziert werden kann. Auch die erfolgreiche Reprogrammierung von adulten PBSC oder CB-SC und ihre anschließende Ausdifferenzierung zu reifen Blutzellen wurde gezeigt.

### **Etablierung, Robustheit und Ökonomie der Produktion im pharmazeutischen Maßstab.**

Hier liegt derzeit die wohl größte Herausforderung in der klinischen Entwicklung von in vitro aus Stammzellen expandierten EK. Der Einsatz speziell adaptierter Bioreaktorsysteme ist ein Schlüssel auf dem Weg zur Bewältigung der Generierung großer Zellmengen. In der klassischen, zweidimensionalen (2-D) Kultur werden Zelldichten bis etwa  $3 \times 10^6$ /ml erreicht. Für ein EK mit  $2 \times 10^{12}$  Zellen entspricht das einem Kulturvolumen von 600 Litern! Die

bereits in den letzten 20 Jahren getätigten Entwicklungen für das „Scale-Up“ der Produktion z. B. rekombinanter Proteine aus Säugerzelllinien müssen auf die Erythropoese angepasst werden<sup>5</sup>. Minimal müssten  $5 \times 10^7$ /ml Zellen als End-Zelldichte erreicht werden (entsprechend 30 Litern pro EK), die verwendeten Reaktorsysteme dürften eine etwa 10fach höhere Zelldichte zulassen, unter entsprechender Perfusion<sup>5</sup>. Die Reaktoren müssen eine gute Versorgung mit Eisen (z. B. über humanes Transferrin) und sauerstoffarmem Medium zulassen. Mit Hilfe von Messsonden und Erfassung von Feedback-Parametern muss eine sowohl quantitativ und qualitativ zielsicher gesteuerte Expansion ermöglicht werden. Derzeit sind u. a. sogenannte Hohlfaser („hollow-fiber“) Reaktorsysteme in der Versuchsphase, die sowohl die kontinuierliche Durchflutung mit Kulturmedium ermöglichen. Sie erlauben auch die Anordnung in mehreren sukzessiv in der Reihenfolge der Zellreifung zu besiedelnden Kompartimenten. Insbesondere für die kritischen Phasen des Eiseneinbaus und der Enukleation müssen vermutlich besondere Strukturen mit sog. Nischen, entsprechend der kleinsten Einheit der Hämatopoese im Knochenmark, dem „Hämaton“ zur Verfügung stehen. Besondere Herausforderungen dürften hierbei auch die evtl. nötige Freisetzung von Progeni-



torzellen aus einem Progenitor-generierenden Kompartiment und ihre Ansiedlung und Weiterentwicklung in sog. „erythropoetischen Inseln“ oder geeigneter ähnlicher Elemente sein. Gegenwärtig ist die Entwicklung der Erythropoese in Bioreaktoren in einigen in der pharmazeutischen Industrie angesiedelten Projekten angesiedelt. Von deren Fortschritt dringt derzeit wenig an die Öffentlichkeit.

### Parameter für die pharmazeutische Qualität

Aus Stammzellen erzeugte Erythrozyten wurden, zusätzlich zu den bei konventionellen EK etablierten Qualitätsparametern, bezüglich weiterer Parameter charakterisiert. Hierzu zählen die Deformierbarkeit, der Gehalt wichtiger katalytischer Enzyme wie 2,3-Diphosphoglycerat-Synthase (Biphosphoglycerat-Mutase), die Kapazität des Hämoglobins in den Erythrozyten, Sauerstoff zu binden und freizugeben, die Vollständigkeit der E nukleation, der Retikulozytengehalt, und die Expression der Blutgruppenantigene. Selbstverständlich müssen die Parameter einer endgültigen pharmazeutischen Qualitätskontrolle im Rahmen von Zulassungsverfahren, z. B. bei der European Medicines Agency (EMA) jeweils noch etabliert werden.

## ZU ERWARTENDE WEITERE KLINISCHE ENTWICKLUNG UND AUSBLICK

2011 wurde mit der ersten Transfusion in Menschen und der Ermittlung einer akzeptablen Überlebensrate von noch in klassischen Kultursystemen ein sehr wichtiger Parameter für die weitere klinische Entwicklung erstmals etabliert. Die Autoren erwarten, dass aufgrund der engen Abstimmung mit den Behörden z. B. in Frankreich bei Vorliegen pharmazeutisch ausreichend qualifizierter ganzer EK aus Stammzellen eine erste Phase-I-Pilotstudie durchführbar ist. Natürlich muss auch auf evtl. negative Auswirkungen und Nebenwirkungen ex vivo erzeugter EK geachtet werden. Hierzu könnten die nicht abgeschaltete Expression nicht erwünschter Gene und Genprodukte auf den erzeugten Erythrozyten gehören.

Der Erfolg und die Zeit bis zu ersten klinischen Anwendungen hängen sicher wesentlich von der Entwicklung von Bioreaktor-Verfahren ab. Für die weitere klinische Entwicklung sind verschiedene Szenarien denkbar: Zunächst könnte eine Teilversorgung z. B. für Patienten, für die sehr schwer kompatible Spender rekrutiert werden können (s. o.), europaweit z. B. bereits mit ca. 20 Präparaten pro Jahr über die Rare Donor Banken mit tiefgefro-

renen Zellen aus nur ein oder zwei Zentren erfolgen, und die Machbarkeit der Verfahren zudem weiter etablieren helfen. Stufenweise könnten weitere Versorgungen etabliert werden, z. B. die Versorgung mit autologen EK für multipel allo-sensibilisierte multitransfundierte Patienten. In weiteren Schritten könnte allmählich eine weitere Versorgung bis hin evtl. zur probeweisen oder dauerhaften Flächenversorgung etabliert werden.

Es ist daher Aufgabe der Versorger von Blutprodukten und der im Feld der Hämotherapie Tätigen, sich auf diesem sehr wichtigen Gebiet auf dem Laufenden zu halten, und sich bei den Schritten zur Umsetzung in die Patientenversorgung frühzeitig und intensiv zu beteiligen. Die gute interdisziplinäre Zusammenarbeit und die fruchtbare gemeinsame Entwicklung aller hier tätigen „Stakeholders“ ist sicherlich als Grundlage für diese – für unsere Patienten vielversprechende – Neuentwicklung eines substantiellen Teils der Hämotherapie eine unabdingbare Voraussetzung.

### Die Autoren



**Prof. Dr. med. Reinhard Henschler**

Blutspende Zürich  
Rütlistrasse 19  
8952 Schlieren  
Tel. 058 272 51 17 / 51 27  
Fax 044 731 90 12  
r.henschler@zhbsd.ch



**Dr. med. Beat M. Frey**

Blutspende Zürich  
Rütlistrasse 19  
8952 Schlieren  
Tel. 058 272 51 17 / 51 27  
Fax 044 731 90 12  
bm.frey@zhbsd.ch

Die Literaturhinweise zu diesem Artikel finden Sie im Internet zum Download unter: [www.drk-haemotherapie.de](http://www.drk-haemotherapie.de)