

Klinische Einsatzmöglichkeiten von Mesenchymalen Stromazellen

Zusammenfassung

Das therapeutische Potenzial von Mesenchymalen Stromazellen (MSC) wird in zahlreichen klinischen Studien geprüft. Die klinischen Einsatzmöglichkeiten für MSC sind breitgefächert und reichen vom Einsatz bei der Transplantat-gegen-Empfänger Reaktion nach allogener Stammzelltransplantation bis zur Behandlung von chronischen Rückenschmerzen aufgrund von Bandscheibendegeneration. Im Jahr 2018 wurde die erste Genehmigung für das Inverkehrbringen eines MSC-basierten Produktes zur Behandlung komplexer Fisteln bei Patienten mit Morbus Crohn durch die Europäische Arzneimittelbehörde erteilt. Diese Indikationen bei Erkrankungen mit sehr unterschiedlicher Pathophysiologie basieren auf den postulierten vielfältigen Wirkmechanismen der MSC, vor allem ihren parakrinen und durch Zell-Zell-Kontakt vermittelten Effekten, welche immunmodulatorisch und regenerationsfördernd wirken. Dieser Artikel stellt eine Übersicht zum therapeutischen Einsatz von MSC dar und nimmt darüber hinaus Bezug auf die Good Manufacturing Practice-konforme Herstellung von MSC. Aus aktuellem Anlass gehen wir auch auf Studien zu MSC bei COVID-19-Patienten ein.

Summary

The therapeutic potential of Mesenchymal Stromal Cells (MSC) is currently investigated in numerous clinical trials. MSC have a broad range of clinical applications, from therapeutic use in graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation to the healing of chronic low back pain due to disc degeneration. In 2018, the first marketing authorisation for an MSC-based product, indicated for treatment of complex fistulas in patients with Crohn's disease, was granted by the European Medicines Agency. These indications for MSC with different pathophysiology are based on the postulated multiple mechanisms of action of MSC, especially on their paracrine and cell-cell-contact effects which lead to immunomodulation and support regeneration. Here we review the therapeutic use of MSC and also touch on Good Manufacturing Practice conforming production of MSC. In the light of current events we also refer to studies of MSC for treatment of COVID-19.

EINLEITUNG

Mesenchymale Stromazellen (MSC) kommen in einer Vielzahl von adulten Geweben im menschlichen Körper, u. a. im Knochenmark (BM-MSC), in Fettgewebe (Adipose Tissue-derived MSC = ASC) und in perinatalen Geweben (Nabelschnur, Plazenta) vor^{1,2}. MSC sind für den therapeutischen Einsatz interessant, weil ihre Gewinnung ethisch gut vertretbar und ihre ex vivo-Expansion relativ einfach und schnell ist³. Im Vergleich zu embryonalen Stammzellen oder induzierten pluripotenten Stammzellen (aus Körperzellen, genetisch veränderte Stammzellen) sind Proliferationskapazität sowie Differenzierungspotential der MSC deutlich begrenzt⁴. Allerdings bestehen für embryonale Stammzellen in Deutschland aus ethischen Gesichtspunkten hohe Hürden. Zudem liegen bei induzierten pluripotenten Stammzellen aufgrund der genetischen Abänderung noch nicht genügend Daten über ihre genetische Stabilität vor.

Definition von Mesenchymalen Stromazellen

Die International Society of Cellular Therapy (ISCT) hat bereits im Jahr 2006 eine weltweit anerkannte Definition für MSC vorgeschlagen und kontinuierlich adaptiert⁵⁻⁸. Gemäß der ursprünglichen Definition aus dem Jahr 2006


sind MSC plastikadhärente Zellen und tragen auf ihrer Zelloberfläche sogenannte Identitätsmarker (cluster of differentiation (CD)73, CD90, CD105; ≥ 95 % der Zellen). MSC exprimieren demnach nicht CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19 und kein humanes Leukozytenantigen (HLA)-DP, HLA-DQ, HLA-DR (≥ 98 % der Zellen). Darüber hinaus sollen MSC in vitro in Adipozyten, Chondrozyten und Osteoblasten differenzierbar sein^{5,8,9}. In einem weiteren Positionspapier hat die ISCT diese Definition fortgeschrieben und die Kriterien der fehlenden Expression von CD34 und HLA-Klasse-II relativiert⁸.

Postulierte Wirkmechanismen

Es wird angenommen, dass es keinen singulären und spezifischen Wirkmechanismus der MSC für eine Erkrankung gibt, sondern dass MSC über ein breites Spektrum wirken. Die Wirkmechanismen sind in der Regel noch nicht klinisch belegt, sondern basieren auf präklinischen Daten. Die möglichen Wirkmechanismen werden im Folgenden am Beispiel einer intravenösen Gabe erläutert. Eine lokale Applikation der MSC ist ebenfalls möglich. Der Effekt der MSC kann vom Applikationsweg abhängen¹⁰.

Nach intravenöser Gabe verbleibt ein Großteil der Zellen in der Lungenstrombahn. Ein Teil der MSC ist in der

Lage, auf Signale der Entzündung und Gewebeschädigung zu reagieren und am Ort des Geschehens durch die Freisetzung von Wachstumsfaktoren¹¹, (anti-) entzündlichen¹², anti-apoptotischen¹³, anti-fibrotischen¹⁴, immunmodulatorischen und chemotaktisch-wirkenden Faktoren^{15,16} sowie durch die Freisetzung von extrazellulären Vesikeln (**siehe Infobox 1**) zu wirken^{17,18}. Somit verhindern MSC überschießende Entzündungsreaktionen und begünstigen die Bildung neuer Gefäße¹¹, die Proliferation und Differenzierung von Progenitorzellen (u. a. des Immunsystems in regulatorische T-Zellen und in Makrophagen Typ 2), modulieren Immunantworten¹⁵ und hemmen die Bildung von Fibrose bzw. Vernarbungen bei der Wundheilung¹⁴. Aufgrund ihrer niedrigen Expression an HLA-Klasse II und ko-stimulatorischen Molekülen (CD40, CD80, CD86)¹⁹ sowie ihrer immunregulierenden Wirkung sind neben autologen auch allogene Transplantationen möglich. Trotzdem könnten MSC vom Immunsystem des Empfängers erkannt werden²⁰ und eine Allosensibilisierung auslösen²¹. Trotz möglicher Allosensibilisierung werden sie vom Empfänger vertragen und scheinen auch nicht weniger wirksam zu sein²⁰. Aus diesem Grund gelten MSC-Präparate weitgehend als sicher mit einem geringen Nebenwirkungsprofil. MSC sind zudem möglicherweise in der Lage, in bestimmte Zelltypen, z. B. Knochenzellen und möglicherweise in Endothelzellen oder Hautzellen, zu differenzieren^{11,22,23} und so defekte Zellen zu ersetzen. Im Fokus der klinischen Studien steht derzeit das immunmodulatorische und regenerationsfördernde Potenzial der MSC^{14,24}. Sowohl parakrine Effekte



Extrazelluläre Vesikel (EV)

EVs sind von einer Doppelschicht an Phospholipiden umhüllt und transportieren Signalmoleküle wie Proteine, Lipide und Nucleinsäuren zu benachbarten Zellen oder über das Blut zu entfernteren Zellen. EVs sind ein Sammelbegriff und werden unterteilt in apoptotische Körperchen, Mikrovesikel und Exosomen. Sie unterscheiden sich in ihrer Größe, Entstehung (Biogenese) und Isolierungsmethode. Der Durchmesser von Mikrovesikeln beträgt 100–1.000 nm und von Exosomen 30–150 nm. Von MSC freigesetzte Mikrovesikel und Exosomen haben in präklinischen und klinischen Studien einen therapeutischen Nutzen gezeigt^{17,81,82} und werden als zellfreie therapeutisch-wirkende Alternative zu MSC diskutiert⁸¹. MSC-abgeleitete Exosomen kommen bei Patienten mit akutem ischämischen Schlaganfall, Makuladefekten, Diabetes mellitus Typ I, trockenen Augen oder Epidermolysis bullosa in klinischen Studien zum Einsatz²⁵.

Infobox 1: Extrazelluläre Vesikel (EV)

als auch Zell-Zell-Kontakt-vermittelte Wirkungen spielen dabei eine Rolle. **Abbildung 1** zeigt schematisch die aktuell angenommenen therapeutischen Wirkmechanismen der MSC.

Postulierte therapeutische Wirkmechanismen der MSC

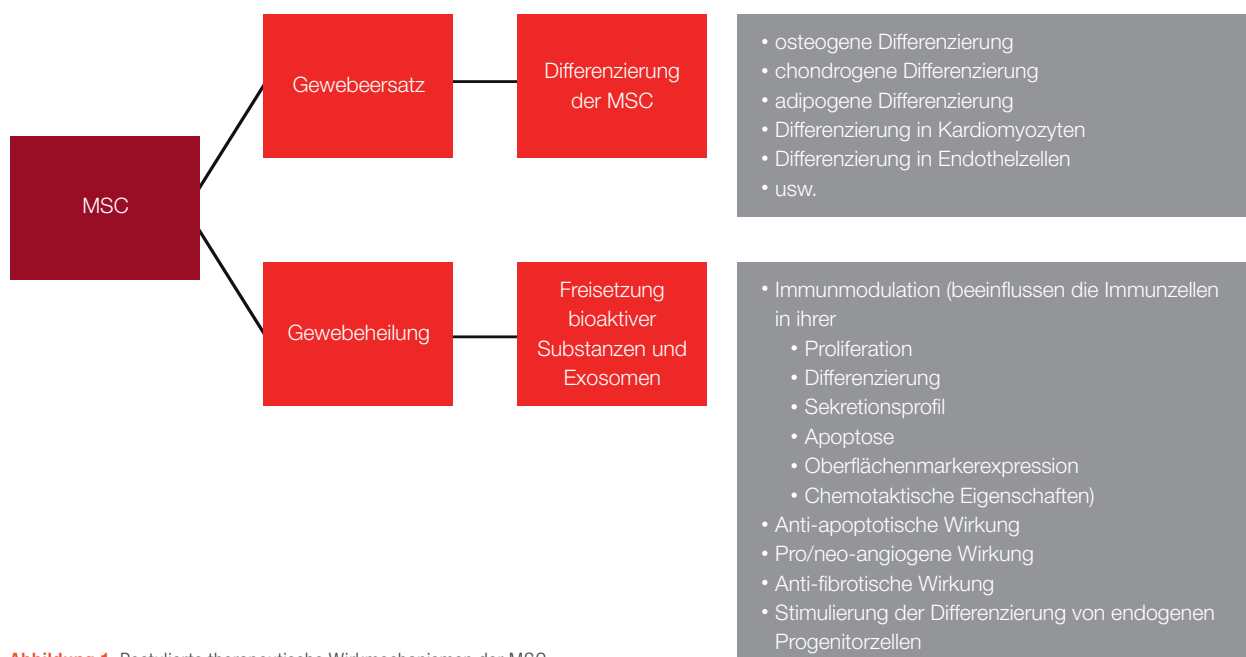


Abbildung 1: Postulierte therapeutische Wirkmechanismen der MSC

KLINISCHE EINSATZMÖGLICHKEITEN VON MESENCHYMALEN STROMAZELLEN, KLINISCHE STUDIEN

Am 31.01.2020 waren bei clinicaltrials.gov 1.104 klinische Studien registriert, welche den therapeutischen Einsatz von MSC (Therapiestudien) oder die Rolle der endogenen MSC in einem spezifischen Krankheitsbild (Grundlagenforschung) untersuchen. Davon finden 21 klinische Studien in Deutschland statt. **Abbildung 2** zeigt die prozentuale Aufteilung der weltweit stattfindenden klinischen Studien in Phase I bis IV (**siehe Infobox 2**). Phase I- und II-Studien decken über 90 % der Gesamt-Studienzahl mit MSC ab. Nur wenige Studien mit MSC befinden sich in Phase III und IV²⁵.

Im nachfolgenden werden einige derzeit evaluierte klinische Einsatzmöglichkeiten von MSC vorgestellt, wobei jeweils die Anzahl der bei clinicaltrials.gov gemeldeten, abgeschlossenen oder noch rekrutierenden klinischen Studien angegeben ist. Wir weisen dann auch darauf hin, ob es sich um Phase I/II-, III- oder IV-Studien handelt. Da die Phase III- und IV-Studien deutlich mehr Patienten einschließen, werden wir insbesondere die Ergebnisse dieser Studien kurz zusammenfassen, sofern diese bereits veröffentlicht sind. Unter Umständen gibt es zu einigen Krankheiten bereits systematische Analysen (systematische Reviews oder Meta-Analysen). Diese werden wir knapp zusammenfassen.

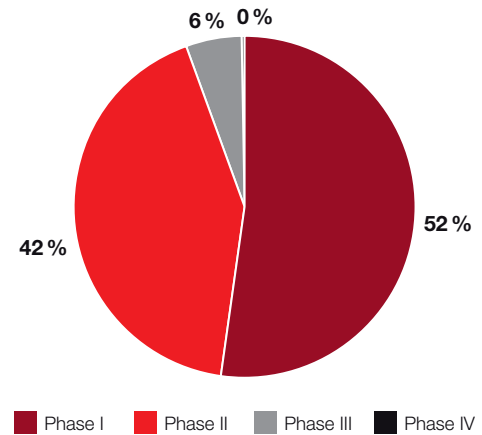


Phasen klinischer Studien

Klinische Studien werden auch anhand ihrer Größe/Teilnehmerzahl in vier Phasen eingeteilt. In Phase I-Studien wird eine neue Behandlung erstmals an gesunden Freiwilligen bzw. an einer definierten Patientenpopulation bezüglich ihrer Verträglichkeit und Sicherheit getestet. In Phase II-Studien wird eine neue Behandlung zu Therapie Zwecken an Patientinnen und Patienten zur Testung der Wirksamkeit und zur Findung der optimalen Dosis getestet. Phase III-Studien sind groß angelegte Studien. Sie geben, meist in Vergleichsstudien (z. B. neue Behandlung versus Standardbehandlung), Aufschluss über die Wirksamkeit und Sicherheit der neuen Behandlung. Phase IV-Studien werden nach Marktzulassung einer Behandlung in der zugelassenen Indikation durchgeführt.

Infobox 2: Phasen klinischer Studien

Abgeschlossene und beendete klinische Studien (n=356)



Aktive und rekrutierende klinische Studien (n=303)

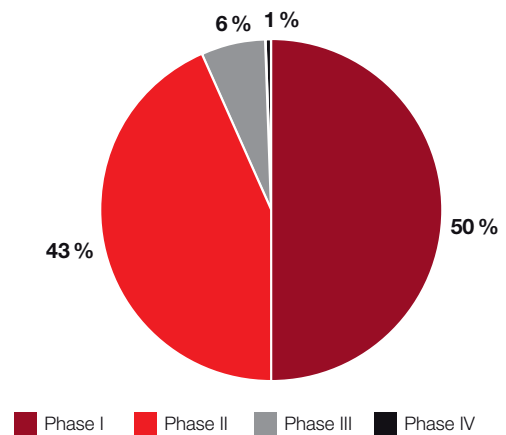


Abbildung 2: Registrierte klinische Studien mit MSC auf clinicaltrials.gov²⁵. Der Suchbegriff „mesenchymal stroma cell“ OR „mesenchymal stromal cell“ OR „mesenchymal stem cell“ führte zu 1.104 klinischen Studien (am 31.01.2020), von denen 659 den Status aktiv rekrutierend oder abgeschlossen und beendet haben.

Autoimmunerkrankungen

Wenn Immunzellen körpereigene Zellen als fremd erkennen und diese angreifen, entstehen Autoimmunerkrankungen. Oft werden immunsuppressive Medikamente zur Behandlung eingesetzt, um damit den Schweregrad der Erkrankung zu kontrollieren. MSC könnten wegen ihrer Fähigkeit, Immunzellen zu beeinflussen und Entzündungsreaktionen abzuschwächen, für die Behandlung von Autoimmunerkrankungen wirksam sein.

Colitis ulcerosa

Colitis ulcerosa ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Schleimhaut des Dickdarms. Sieben laufende klinische Studien sind auf clinicaltrials.gov registriert, welche MSC-Therapie bei Colitis ulcerosa-Patienten unter-

suchen. Es handelt sich hierbei um Phase I- und II-Studien. In sechs der sieben Studien (Therapiestudien) werden allogene MSC zu therapeutischen Zwecken bei Colitis ulcerosa-Patienten eingesetzt. In diesen Studien werden MSC aus unterschiedlichen Geweben untersucht (BMMSC (1), ASC (2), MSC aus der Nabelschnur (3))²⁵.

In einer weiteren Studie (Grundlagenforschung) geht es darum, MSC aus dem Darm von Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen und gesunden Kontrollpersonen zu isolieren und zu charakterisieren, um so ihre Rolle bei der Entstehung der entzündlichen Darmerkrankung zu erforschen²⁵.

Die Auswertung von sieben klinischen Studien in einem systematischen Review kam zum Ergebnis, dass die Heilungsrate bei Patienten mit MSC-Behandlung (allein oder in Kombination mit 5-Aminosalicylsäure) höher war als bei Patienten die nur 5-Aminosalicylsäure-Behandlung erhielten²⁶.

Morbus Crohn

Morbus Crohn ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung, die den gesamten Verdauungstrakt betreffen kann. Es sind 30 klinische Studien mit MSC und Morbus Crohn bei clinicaltrials.gov registriert. Davon sind 14 Studien bereits abgeschlossen bzw. beendet und vier Studien aktiv und rekrutierend. Es gibt keine Phase IV-Studie, jedoch vier abgeschlossene Phase III-Studien. Wir gehen nachfolgend insbesondere auf diese Phase III-Studien ein, da sie für die Marktzulassung notwendig sind. Drei der vier abgeschlossenen Studien hängen zusammen und haben die Wirksamkeit und Verträglichkeit von intravenös verabreichten allogenen BMMSC (PROCHYMAL™) in Morbus Crohn Patienten getestet (Identifikationsnummern: NCT00482092, NCT00543374, NCT01233960). Bisher gibt es für diese Indikation jedoch keine Marktzulassung. Die vierte abgeschlossene Studie hat die Sicherheit und Wirksamkeit von allogenen ASC bei perianalen Fisteln von Morbus Crohn-Patienten untersucht (Identifikationsnummer: NCT01541579)²⁵. Die zuletzt genannte Studie ist die Grundlage für die Zulassung von Alofisel® (siehe Abschnitt „Klinische Einsatzmöglichkeiten von Mesenchymalen Stromazellen, zugelassene Arzneimittel“). Die Studie hat eine signifikante Überlegenheit der ASC-Therapie gegenüber der Kontrollgruppe (Behandlung mit Kochsalzlösung) nach 24 Wochen gezeigt und deutet darauf hin, dass die Remission mittels ASC-Therapie langfristig (nach einem Jahr) aufrecht erhalten werden kann^{27,28}. Es wird angenommen, dass der Wirkmechanismus der MSC hier vor allem auf ihren anti-entzündlichen Eigenschaften beruht²⁹.

Ein systematischer Review mit Metanalyse wertete Studien aus, in denen MSC als lokale Injektionen in perianale Fisteln gegeben wurden³⁰. Ein Verschluss der Fisteln wurde bei 80 % der MSC-behandelten Patienten erreicht. In den randomisierten Studien lag die Erfolgsrate bei 64 % in der MSC-Behandlungsgruppe und 37 % in der Kontrollgruppe³⁰. Es wurden keine Rezidive der Fisteln berichtet. Die Verträglichkeit der lokal applizierten MSC war gut³⁰. Als mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Effizienzen in den erwähnten klinischen Studien könnten Daten dienen, die in einem Mausmodell einer toxischen Kolitis gewonnen wurden. Hier führte nur die lokale Gabe von frischen MSC zu einer signifikanten Besserung der Kolitis führte, während die intravenöse Gabe von MSC keinen Effekt zeigte¹⁰. Diese Beobachtung aus einem speziellen experimentellen Modell kann jedoch nicht verallgemeinert werden – sie ist jedoch ein Hinweis darauf, dass der Applikationsweg in Abhängigkeit von der behandelten Krankheitsentität entscheidend sein kann.

Weitere Autoimmunerkrankungen

Unter den 91 klinischen Studien zu den Stichworten Autoimmunerkrankungen und MSC, sind 23 aktive und rekrutierende klinische Studien und 30 abgeschlossene und beendete klinische Studien. 29 klinische Studien behandeln Patienten mit Multipler Sklerose, 28 Studien Patienten mit Diabetes mellitus Typ I, 15 Studien Patienten mit rheumatoider Arthritis und 14 Studien Patienten mit systemischem Lupus erythematodes. Wie zuvor bereits erwähnt, gibt es nur drei Phase III-klinische Studien, zwei davon behandeln Patienten mit Diabetes mellitus Typ I und eine Studie Patienten mit rheumatoider Arthritis²⁵. Die Patienten mit Diabetes mellitus werden in diesen zwei Studien mit autologen BMMSC (Identifikationsnummer: NCT01157403) oder mit (aus Nabelschnurblut gewonnenen) MSC-abgeleiteten Exosomen (Identifikationsnummer: NCT02138331) behandelt. Die dritte Phase III-Studie hat den therapeutischen Effekt einer intraartikulären Injektion von BMMSC bei Patienten mit Kniearthrose, ausgelöst durch rheumatoide Arthritis, untersucht (Identifikationsnummer: NCT01873625). Es gibt derzeit keine Phase IV-Studie zu MSC und Autoimmunerkrankungen²⁵.

Die bisher veröffentlichten Studien zu MSC und Multipler Sklerose wurden in einem systematischen Review bewertet und zeigten eine gute Verträglichkeit der MSC³¹. In den Studien ohne Kontrollgruppe besserte sich bei 47 % der Patienten nach der MSC-Therapie der „expanded disability status scale“ (EDSS), welcher den Grad der funktionellen Einschränkung durch die Multiple Sklerose angibt. Bei 38 % der Patienten war der EDSS nach Therapie unverändert und bei 16 % verschlechterten sich der EDSS. Die

Ergebnisse der randomisierten Studien waren im Hinblick auf diesen klinischen Endpunkt nicht eindeutig³¹.

In einer Metaanalyse bisher verfügbarer Ergebnisse einer Stammzelltherapie bei Diabetes mellitus zeigte sich eine signifikante Senkung des Insulinbedarfes, des glykosylierten Hämoglobins (HbA1c) und eine Erhöhung der C-Peptid-Spiegel sowohl bei Diabetes mellitus Typ 1 als auch Typ 2. In einer Subgruppenanalyse waren die Effekte bei Typ 1-Diabetes nur in der Gruppe nach hämatopoetischer Stammzelltherapie, aber nicht nach MSC-Therapie signifikant. Dagegen waren die oben genannten Endpunkte bei Typ 2-Diabetes nach MSC-Therapie signifikant verbessert³².

Nierenerkrankungen

Mögliche Nierenerkrankungen bei denen MSC eingesetzt werden können sind das akute Nierenversagen, die chronische Niereninsuffizienz, die diabetische Nephropathie und die Verwendung von MSC zur Prophylaxe der Abstoßung der Nierentransplantation. Obwohl diese Erkrankungen unterschiedliche Ursachen und Krankheitsbilder haben, setzt man auf die therapeutischen Effekte der von MSC freigesetzten pro-angiogenen, anti-apoptischen und immunmodulierenden Faktoren^{18,33}. Auf clinicaltrials.gov sind derzeit 37 registrierte klinische Studien zu MSC und Nierenerkrankungen gelistet. Es gibt ausschließlich Phase I- und II-Studien. Fünf Studien sind beendet und abgeschlossen. Dreizehn Studien sind aktiv und rekrutieren Teilnehmer. Die Patienten werden mit allogenen oder autologen MSC behandelt²⁵.

Graft-versus-Host-Erkrankung

Die Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) zählt zu den klinischen Indikationen, bei den MSC schon sehr früh und

mit Erfolg eingesetzt wurden. Es gibt 51 registrierte klinische Studien zu MSC und GvHD (**siehe Infobox 3**). 16 Studien sind abgeschlossen und beendet. Elf Studien sind aktiv und rekrutieren Patienten. Es ist keine Phase IV-Studie auf clinicaltrials.gov zu MSC und GvHD registriert, jedoch neun Phase III-Studien. Davon sind vier klinische Studien abgeschlossen und eine Studie rekrutiert Teilnehmer. Drei der vier abgeschlossenen Studien untersuchten die Wirksamkeit von PROCHYMAL™ bzw. remestemcel-L (allogene BMMSC) bei Erwachsenen (Identifikationsnummer: NCT00366145, NCT00562497) und Kindern (Identifikationsnummer: NCT00366145, NCT02336230) mit neu diagnostizierter akuter GvHD (Identifikationsnummer: NCT00562497) oder steroidrefraktärer akuter GvHD (Identifikationsnummer: NCT00366145, NCT02336230)²⁵. PROCHYMAL™ ist ein in Kanada und Neuseeland zugelassenes Arzneimittel für die Behandlung von Kindern mit steroidrefraktärer akuter GvHD (siehe Abschnitt „Klinische Einsatzmöglichkeiten von Mesenchymalen Stromazellen, zugelassene Arzneimittel“). Eine weitere abgeschlossene klinische Studie untersuchte die Wirksamkeit von allogenen BMMSC zur GvHD-Prophylaxe nach einer allogenen Stammzelltransplantation (Identifikationsnummer: NCT03106662)²⁵.

Insgesamt wird die MSC-Therapie von den Patienten gut vertragen, allerdings ist die klinische Wirksamkeit in den verschiedenen Studien sehr unterschiedlich z. B. im Hinblick auf das Gesamtüberleben^{34,35}. Eine Metaanalyse von Studien, in welchen MSC entweder zur Prophylaxe oder Therapie der GvHD verabreicht wurden, zeigte eine Verbesserung des Gesamtüberlebens, eine geringere Inzidenz von Grad IV-GvHD und chronischer GvHD bei den MSC-behandelten Patienten im Vergleich zu Kontrollen³⁶. Das Gesamtüberleben der Patienten mit aku-



Graft-versus-Host Disease (GvHD)

Bei der Transplantat-gegen-Empfänger-Reaktion wird als Folge einer allogenen Knochenmark- oder Stammzelltransplantation und der immunologischen Inkompatibilität der Gewebemerkmale von Spender und Empfänger das Immunsystem des Spenders (insbesondere die T-Zellen) aktiviert. Es erkennt die Empfängerzellen als fremd und versucht, diese zu bekämpfen und abzustößeln. Die betroffenen Organe sind häufig Haut, Leber, Darm Lunge und Auge. Um diesen Prozess der Abstoßung des Spenders durch das transplantierte Immunsystem zu mildern, werden die Patienten mit Immunsuppressiva (z. B. Kortikosteroiden, Cyclosporin, Mycophenolatmofetil u. a.) behandelt. Diese Behandlung erhöht allerdings das Risiko für schwerwiegende Infektionen. Man unterscheidet zwischen akuter, late onset akuter und chronischer GvHD⁸³, wobei die Übergänge oft fließend sind. Eine amerikanische retrospektive Studie hat gezeigt, dass das Auftreten einer akuten GvHD nach einer allogenen Stammzelltransplantation die Sterbewahrscheinlichkeit eines Patienten verdreifacht und die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus sowie die Gesamtkosten beinahe verdoppelt⁸⁴.

Infobox 3: Graft-versus-Host Disease (GvHD)

ter GvHD korrelierte mit der MSC-Dosis³⁶. Bei Patienten mit akuter GvHD sprachen 67 % auf die MSC-Therapie an und 39 % erreichten ein komplettes Ansprechen. Die Haut war das Organ mit dem besten Ansprechen³⁶.

Die Wirksamkeit der Zelltherapie scheint zudem bei Kindern besser zu sein als bei Erwachsenen³⁷. Hier sollte allerdings bedacht werden, dass die Prognose der steroidrefraktären GvHD bei Kindern auch ohne MSC viel besser ist.

Für das Krankheitsbild GvHD gibt es drei MSC, welche in bestimmten Ländern zugelassen oder genehmigt sind (siehe Abschnitt „Klinische Einsatzmöglichkeiten von Mesenchymalen Stromazellen, zugelassene Arzneimittel“): TEMCELL®, PROCHYMAL™, Obnitix®.

Knochendefekte und Arthrose

Für nicht-heilende Knochenfrakturen stellen MSC eine vielversprechende Alternative dar. MSC könnten durch ihr osteogenes Induktions- und Differenzierungspotential^{22,38–40} und durch ihre immunmodulatorische und pro-angiogene Wirkung⁴⁰ therapeutisch wirksam sein. Aktuell gibt es 28 registrierte klinische Studien zu MSC und Frakturen, davon sind zwölf Studien abgeschlossen und beendet, sieben Studien sind aktiv und rekrutieren Teilnehmer und vier sind in Phase III. Es gibt eine abgeschlossene Phase III-Studie. Diese hat sich mit der therapeutischen Wirksamkeit von autologen ASC bei Patienten mit einer Fraktur des Unterkiefers befasst (Identifikationsnummer: NCT02755922)²⁵.

Bei der Arthrose handelt es sich um eine sehr schmerzhaft-degenerative Gelenkerkrankung, die in einer alternierenden und adipösen Gesellschaft ein immer größer werdendes Problem darstellt. Knie- und Hüftgelenke sind am häufigsten betroffen. Einer Arthrose kann eine chronische Entzündung zu Grunde liegen, welche den Knorpelaufbau behindert und den Knorpelabbau durch freigesetzte destruktiv-wirkende Enzyme begünstigt⁴¹. MSC sind für den therapeutischen Einsatz bei Arthrose vor allem wegen ihrer postulierten immunmodulierenden Wirkung und der Stimulierung der endogenen Knorpelregeneration interessant⁴². MSC können zu therapeutischen Zwecken als Zellsuspension oder eingebettet in ein Kollagengel in den Gelenkspalt eingebracht oder perkutan injiziert werden⁴². Es gibt 97 registrierte klinische Studien zu MSC und Arthrose, davon sind 36 Studien abgeschlossen und beendet und 37 Studien sind aktiv und rekrutieren Teilnehmer. Acht Phase III-Studien sind auf clinicaltrials.gov registriert, davon sind zwei abgeschlossen. Diese beiden Studien

bauen aufeinander auf. Es handelt sich um Vergleichsstudien, welche die Sicherheit und Wirksamkeit von allogenen MSC, welche aus Nabelschnurblut isoliert wurden (CARTISTEM®), bei Patienten mit Kniegelenksknorpelverletzungen untersucht und mit einer anderen Behandlungsmethode verglichen haben (Identifikationsnummer: NCT01041001, NCT01626677)²⁵. CARTISTEM® ist heute ein zugelassenes Arzneimittel (siehe Abschnitt „Klinische Einsatzmöglichkeiten von Mesenchymalen Stromazellen, zugelassene Arzneimittel“).

Wundheilungsstörungen

Wundheilungsstörungen spielen in unserer alternden Gesellschaft eine zunehmend größere Rolle, nicht zuletzt auch wegen einer wachsenden Anzahl an Diabetes-Patienten. Es gibt 24 registrierte Studien zu MSC und chronischen Wunden, dabei handelt es sich um Phase I- und II-Studien. Sechs Studien sind abgeschlossen und beendet, sieben Studien rekrutieren Teilnehmer²⁵. Präklinische und klinische Studien haben gezeigt, dass MSC den chronischen Entzündungsprozess in chronischen Wunden durch Immunmodulation auflösen können und die natürliche Wundheilung unterstützen können⁴³. Zudem können MSC die Gefäßbildung unterstützen und die Narbenbildung reduzieren^{14,43,44}.

Neurodegenerative Erkrankungen

Das Spektrum an neurodegenerativen Erkrankungen, die mit MSC behandelt werden können, ist groß. MSC setzen pro-angiogene, immunmodulierende und neurotrophische Faktoren frei und könnten somit bei neurodegenerativen Erkrankungen therapeutisch wirksam sein⁴⁵. Es gibt 52 registrierte klinische Studien zu neurodegenerativen Erkrankungen und MSC. Davon behandeln 21 amyotrophe Lateralsklerose, zwölf Morbus Alzheimer, sieben Morbus Parkinson und drei Chorea Huntington. In neun weiteren Studien werden Patienten mit Erkrankungen wie beispielsweise Ataxie und Multisystematrophie mit MSC behandelt²⁵. Auf clinicaltrials.gov sind zwei laufende Phase III-Studien für das Krankheitsbild amyotrophe Lateralsklerose und Chorea Huntington registriert (Identifikationsnummer: NCT03280056, NCT04219241), bei den restlichen klinischen Studien handelt es sich um Phase I- bzw. II-Studien. Applikationsarten für MSC bei neurodegenerativen Erkrankungen können z. B. die intravenöse, intraspinale/ intrathekale oder intraventrikuläre Injektion sein.

Vaskuläre Erkrankungen

Vaskuläre Erkrankungen, wie beispielsweise Myokardinfarkt, die periphere arterielle Verschlusskrankheit und

ischämischer Schlaganfall, werden derzeit als mögliche Indikationen für die therapeutische Anwendung von MSC evaluiert. In einigen präklinischen Studien wurde untersucht, ob MSC in Kardiomyozyten und Endothelzellen differenzieren könnten¹¹, um geschädigtes Gewebe zu ersetzen und die Gefäßbildung zu unterstützen. Hierbei zeigten sich kontroverse Ergebnisse, so dass aktuell davon ausgegangen wird, dass die transplantierten MSC mittels Freisetzung von Wachstumsfaktoren, Zytokinen und Exosomen zur Gefäßneubildung und zur endogenen Stammzellendifferenzierung beitragen könnten^{11,46}. Auf clinicaltrials.gov sind 126 klinische Studien zu MSC und vaskulären Erkrankungen registriert. 37 Studien sind abgeschlossen und beendet. 36 Studien sind aktiv und rekrutieren Teilnehmer. Es gibt keine Phase IV-Studie, aber elf Phase III-Studien für erwachsene Patienten. Die zwei abgeschlossenen Phase III-Studien haben Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt mit MSC behandelt und die Behandlung mit einer Placebo-Gruppe verglichen. Eine Studie hat die Sicherheit und Wirksamkeit einer intravenös-verabreichten Einmaldosis allogener BMMSC untersucht, welche unter hypoxischen Bedingungen kultiviert wurden (Identifikationsnummer: NCT02672267). Die andere Studie hat die Sicherheit und Wirksamkeit intrakoronar-verabreichten autologer BMMSC analysiert (Identifikationsnummer: NCT01392105)²⁵.

Polytrauma und Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

Polytrauma ist ein weltweites Problem und betrifft alle Altersgruppen. Es ist definiert über die gleichzeitige Verletzung mehrerer Körperregionen und das Vorliegen eines oder mehrerer physiologischer Probleme. Die häufigste Ursache für ein Polytrauma sind Verkehrsunfälle (47 %) und Stürze aus der Höhe (42 %) (Trauma Register DGU®). Die Mortalität im Krankenhaus beträgt ca. 11 %⁴⁷. Der therapeutische Einsatz von MSC in der Behandlung von Polytrauma-Patienten wird schon länger diskutiert⁴⁸ und mehrere präklinische Studien wurden bereits durchgeführt^{49–51}. Auf clinicaltrials.gov ist eine klinische Studie (Grundlagenforschung) namens „Inflammatory Response After Muscle and Skeleton Trauma (IRAMST)“ registriert²⁵. Sie wurde im Jahr 2008 bis 2015 an der Universität Ulm durchgeführt und untersuchte u. a. die Entzündungsreaktion und die Rolle der MSC im Polytrauma (Identifikationsnummer: NCT00710411).

Ca. 96 % aller Polytrauma-Patienten erleiden ein stumpfes Trauma und ca. 38 % aller Patienten weisen ein Thoraxtrauma auf. Eine schwerwiegende Komplikation beim Thoraxtrauma stellt das akute Lungenversagen oder Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

dar, welches je nach Schweregrad eine Mortalität von ca. 28–46 % hat^{52,53}. Es gibt 14 klinische Studien (Phase I- und Phase II-Studien) zum therapeutischen Einsatz von MSC bei ARDS-Patienten. Eine Metaanalyse von klinischen Studien mit MSC-Therapie bei ARDS durch SARS-CoV-2 oder anderen infektiösen Ursachen schloss neun Studien ein⁵⁴. MSC wurden in einer Dosierung von 1–10 x 10⁶ pro kg Körpergewicht gegeben bzw. in einer Studie in einer Absolutdosis von 900 x 10⁶ MSC. Die Mortalität betrug 25 % in den MSC behandelten und 43 % in den Kontrollgruppen⁵⁴. Dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant. Die Lungenfunktion besserte sich in den meisten Fällen innerhalb von fünf Tagen nach der MSC-Therapie⁵⁴. Die Konzentration pro-inflammatorischer Zytokine (Interleukin-1, Interleukin-6, Tumornekrose-Faktor α) fiel nach MSC-Therapie ab, Lymphozytenzahl und Interleukin-10-Spiegel stiegen an⁵⁴.

In bisher publizierten Fallberichten und kleinen Pilotstudien einer Behandlung von COVID-19 mit MSC oder Exosomen aus MSC wurde über gute Verträglichkeit und günstigen Verlauf berichtet^{55–57}.

In clinicaltrials.gov sind derzeit (17.07.2020) zehn klinische Studien gelistet, welche aktuell Patienten mit COVID-19 für eine Therapie mit MSC rekrutieren²⁵, darunter eine Phase II/III-Studie mit MSC-Präparat Remestemcel-L bei COVID-19 mit ARDS⁵⁸.

STANDARDISIERUNG VON MSC FÜR DEN KLINISCHEN EINSATZ

Die Vielzahl an klinischen Studien mit MSC macht die Bemühungen um wirksame therapeutische Alternativen deutlich. Das Ziel ist die Behandlung eines übersteigerten Entzündungsprozesses als mutmaßlich gemeinsam zugrundeliegende Ursache dieser Krankheiten. Allerdings wird die Vergleichbarkeit und damit die endgültige Aussagekraft zur Wirksamkeit der MSC häufig durch die Verwendung unterschiedlicher Ausgangsmaterialien (Knochenmark, Fettgewebe, Nabelschnur etc.), Expansionsprotokolle, Verabreichungsarten (lokal, systemisch), Dosisraten und Studienprotokolle (mit oder ohne Kontrollgruppe, minimale Patientenkohorten etc.) erschwert. Es gibt jedoch publizierte Daten, welche Faktoren im Sinne der Standardisierung beim klinischen Einsatz von MSC zu beachten sind^{59–62}.

WELTWEIT ZUGELASSENE MSC-ARZNEIMITTEL

Die Firma Mesoblast Limited hat sich zum Ziel gesetzt, mit allogenen MSC entzündliche Erkrankungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Rückenschmerzen zu behandeln. Klinische Studien mit den Produkt-Kandidaten finden derzeit in den Vereinigten Staaten, Kanada, Australien und Neuseeland statt⁶³. Mesoblast Limited hat u. a. Lizenzverträge mit JCR Pharmaceuticals Co. Ltd und Takeda, den Herstellern von TEMCELL[®] HS Inj. bzw. Alofisel[®] (Beschreibung von Alofisel[®] siehe unten). TEMCELL[®] enthält allogene BMMSC und ist seit 2015 in Japan für die Behandlung der steroidrefraktären akuten GvHD bei Kindern und Erwachsenen zugelassen. PROCHYMAL[™] wurde von der Firma Osiris Therapeutics Inc. entwickelt und wird seit 2013 von der Firma Mesoblast vermarktet. Es handelt sich um eine therapeutische Dosis von kryokonservierten allogenen BMMSC eines gesunden Spenders, welche bei Bedarf aufgetaut und transfundiert werden kann. 2012 wurde PROCHYMAL[™] in Kanada und Neuseeland für die Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit steroidrefraktärer akuter GvHD zugelassen⁶⁴.

Obnitix[®] (MSC-FFM): Am Standort Frankfurt am Main des DRK-Blutspendedienstes wurde ein spezielles Herstellungsverfahren entwickelt (Zulassungsnummer: PEI.A.11748.01.1^{65,66}). Hierzu werden mononukleäre Knochenmarkszellen von acht Spendern vor der Expansion der MSC gepoolt und gemeinsam kultiviert. Es entstehen reproduzierbar äquivalente Chargen, die nicht der spenderabhängigen Variabilität der MSC unterliegen. Zusätzlich verleiht das gemeinsame Kultivieren den Zellen eine Verstärkung der immunsuppressiven Wirkung. Generell ist der Vorteil einer MSC-Bank bzw. des Einfrierens der Zellen bis zum Bedarf, dass eine ausgiebige Vortestung des Spenders und des Zellpräparats z. B. in funktionellen Tests möglich ist, um die in vivo-Wirkung des Präparats vorherzusagen. Zudem profitieren Patienten in der Notfallmedizin, ältere Patienten und Patienten mit Vorerkrankungen sowie Kinder von diesem „Fertig-Arzneimittel“, da autologe MSC aus Zeitgründen (Dauer der MSC-Expansion und Testung) oder wegen der geringen Menge des Ausgangsmaterials zur Herstellung nicht generiert werden können oder in ihrer Funktion beeinträchtigt sein können^{67–69}. Das Zellpräparat wird bei Kindern und Erwachsenen bei steroidrefraktärer akuter GvHD nach einer allogenen Stammzelltransplantation zusätzlich zur konventionellen immunsuppressiven Therapie verabreicht. Die Dosierung beträgt 1–2 x 10⁶ Zellen pro kg Körpergewicht mit vier Einzeldosen im Abstand von jeweils sieben Tagen. Das Zellpräparat wird unmittelbar vor der

Anwendung aufgetaut und dann dem Patienten intravenös infundiert.

Die Auswertung der 92 Obnitix-behandelten Patienten, davon 88 mit GvHD \geq Grad III und zwei Drittel therapieresistente (d. h. kein Ansprechen auf Kortikosteroide und mindestens zwei weitere Therapielinien), belegt eine Ansprechrate von 82 %⁷⁰. Das Gesamtüberleben nach sechs Monaten betrug 64 %. Die kumulative Inzidenz der Todesfälle durch GvHD betrug lediglich 3 %⁷⁰. Derzeit ist Obnitix mit einem Status 1 als Neue Untersuchungs- und Behandlungsmethode (NUB) klassifiziert, in Deutschland somit verfügbar und erstattungsfähig. Die europäische Zulassungsstudie, initial für das zweite Quartal 2020 geplant, verschiebt sich angesichts der derzeitigen COVID-Krise voraussichtlich ins vierte Quartal.

CARTISTEM[®] enthält aus Nabelschnurblut isolierte und expandierte MSC. Das Arzneimittel von der Firma MEDIPOST Co., Ltd. ist seit Januar 2012 in Südkorea zugelassen. Es wird zur Behandlung der Knorpeldegeneration (inklusive Arthrose) ohne Altersbegrenzung eingesetzt⁷¹.

Alofisel[®] ist ein seit März 2018 auf dem europäischen Markt zugelassenes somatisches Zelltherapeutikum der Firma TiGenix S.A.U. (Takeda Pharma A/S) mit der Zulassungsnummer: EU/1/17/1261⁶⁵. Der Arzneistoff Alofisel[®] beinhaltet humane, allogene ASC und wird für die Behandlung von komplexen perianalen Fisteln bei erwachsenen Patienten mit nicht bis gering aktivem luminalem Morbus Crohn eingesetzt, wenn konventionelle oder biologische Therapien versagt haben⁷². Mit einer Dosis von 120 x 10⁶ ASC können bis zu drei Fistelgänge mit einer Fistelöffnung lokal im Perianalbereich erfolgreich behandelt werden.

HERSTELLUNG KLINISCHER MSC-PRÄPARATE

MSC kommen im menschlichen Körper nur in geringer Anzahl vor und müssen um ein Vielfaches ex vivo expandiert werden, um therapeutisch wirksame Dosen zu erzielen. Dabei werden unterschiedliche Ausgangsmaterialien (u. a. Knochenmark, Lipoaspirat, Nabelschnur), Isolierungsverfahren und Expansionsprotokolle (z. B. unterschiedliche Zellkulturmedien und Zellkulturbedingungen) verwendet. Dies erschwert die Vergleichbarkeit der klinischen Studien und erlaubt zum jetzigen Zeitpunkt lediglich die Aussage, dass die Anwendung als sicher erscheint und keine schwerwiegenden Nebenwirkungen hervorruft. Eine Einschätzung des therapeutischen Erfolges ist derzeit daher nur bedingt möglich. Möglicherweise

wäre eine Betrachtung von MSC nicht als Medikament, sondern als eine Wirkstoffklasse zielführender, da ganz eindeutig die unterschiedlichen Herstellprozesse und Quellen die (pharmakologischen) Eigenschaften der MSC relevant beeinflussen.

Abbildung 3 zeigt ein vereinfachtes Schema der Herstellung, vom Ausgangsmaterial zur klinischen Anwendung von MSC am Beispiel von Knochenmark bzw. Lipoaspirat. BMMSC und ASC werden wegen der einfachen Zugänglichkeit des Ausgangsmaterials und der vielversprechenden Daten in klinischen Studien am häufigsten eingesetzt^{28,40,73}. Dabei kann das Ausgangsmaterial von autologen oder allogenen Spendern stammen und innerhalb oder außerhalb des MSC-Herstellungszentrums gewonnen werden. Die Expansion der MSC dauert mehrere Tage und erfolgt derzeit manuell mit Zellkulturflaschen im

Reinraum. An einer GMP-konformen Expansion der MSC in automatisierten, geschlossenen Zellkulturexpansionssystemen (z. B. mit dem Hohlfaser-Bioreaktor Quantum®) wird derzeit gearbeitet⁷⁴. Während des Herstellungsprozesses wird das Zwischen- und Endprodukt mehreren Kontrollen unterzogen (z. B. mikrobiologische Testung, Mykoplasmentestung, Endotoxintestung, Bestimmung der Identität, Reinheit, Viabilität, Klonogenität und Funktionalität der Zellen), um eine gleichbleibende Sicherheit und pharmakologische Qualität des Endprodukts zu gewährleisten⁷⁵. Nach der Ernte der Zellen erfolgt die Abfüllung des Präparats in Abpackungen, welche je eine klinische Dosis enthalten. Die Zellen werden dabei in Beutel, Spritzen oder Kryogefäßen bis zu ihrer Anwendung im Patienten aufbewahrt. MSC können unmittelbar (innerhalb von 24 Stunden) nach der Herstellung⁷⁶ oder als kryokonservierte Produkte im Flüssigstickstofftank bis zur Anwen-

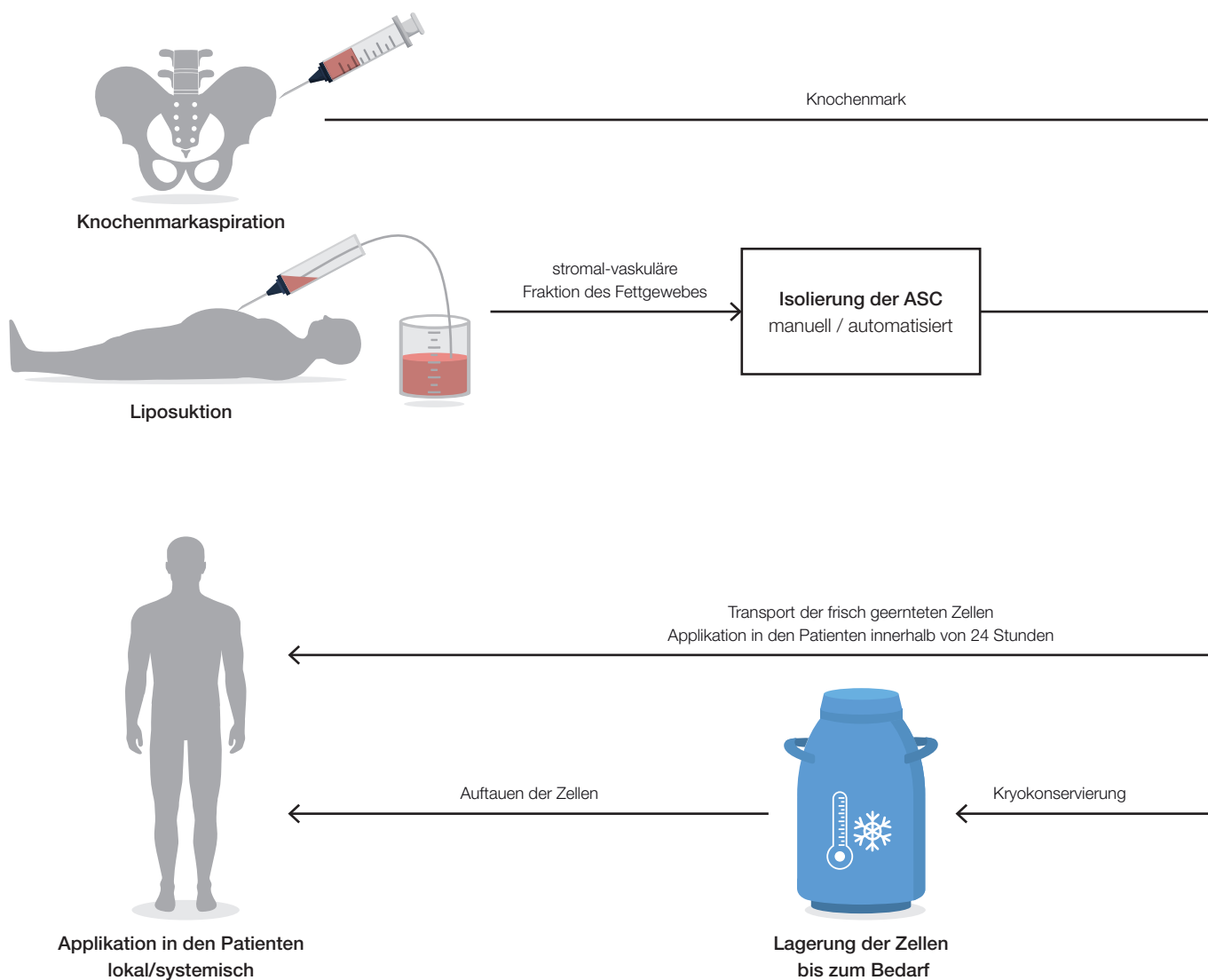


Abbildung 3: Vereinfachtes Schema – vom Ausgangsmaterial zur klinischen Anwendung von Mesenchymalen Stromazellen (MSC) am Beispiel von MSC aus dem Knochenmark oder Fettgewebe (ASC). Mikroskopische Aufnahmen von MSC aus dem Knochenmark.

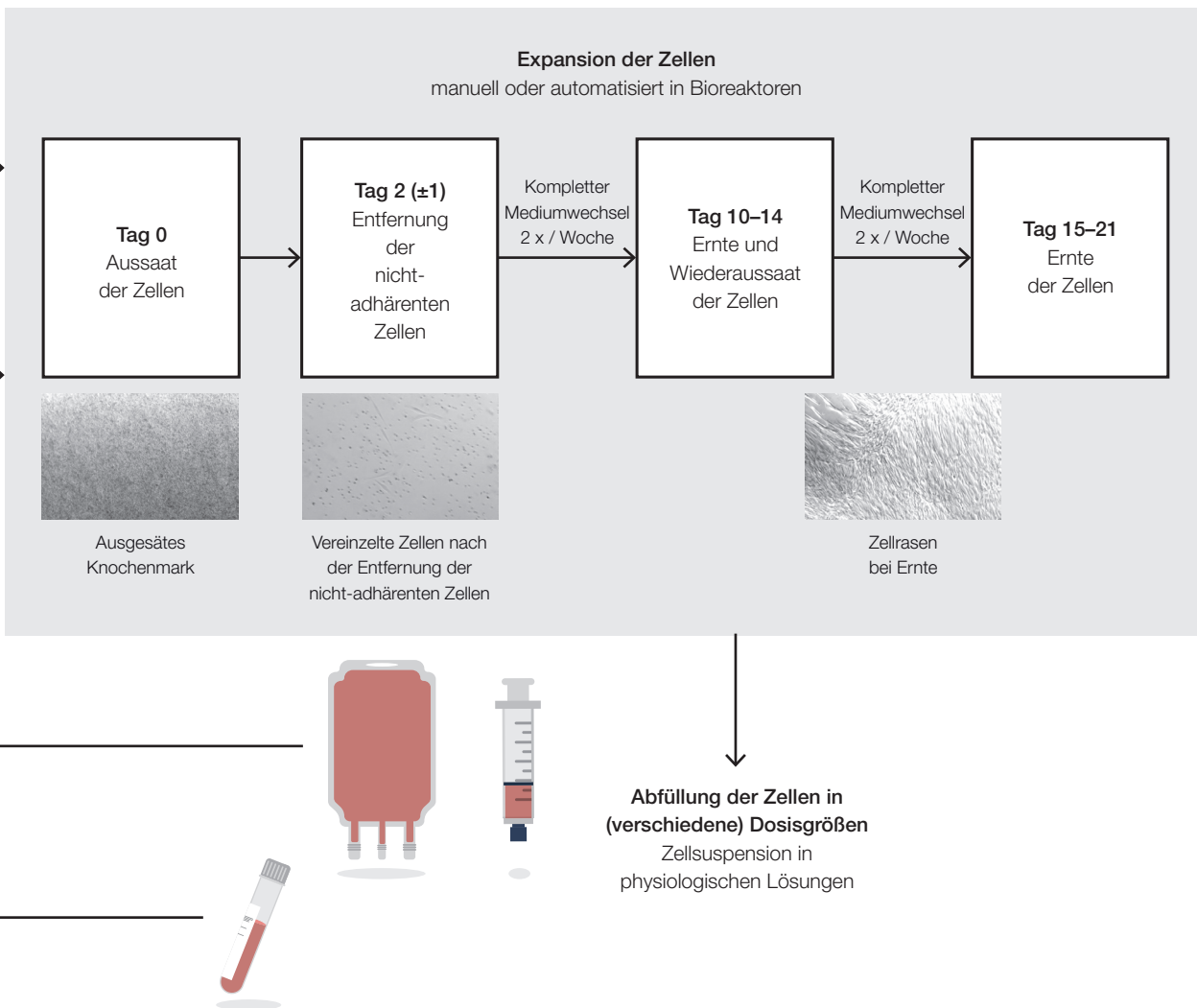
dung gelagert und bei Bedarf aufgetaut und verabreicht werden (z. B. bei MSC-Banken). Kryokonservierte Zellen kommen vor allem bei der allogenen Gabe zum Einsatz.

MSC-Präparate können systemisch z. B. intravenös (z. B. bei GvHD) oder lokal (z. B. bei Knochendefekten oder Arthrose) in den Patienten appliziert werden. Patienten mit nicht-heilenden Frakturen langer Röhrenknochen bekamen autologe MSC, die eine Stunde vor der lokalen Applikation in den Patienten mit einem Kalzium-Phosphat Biomaterial kombiniert wurden⁴⁰ (Identifikationsnummer NCT01842477)²⁵. Im Vorfeld wurde gezeigt, dass dieses Biomaterial die Knochen-Differenzierung der MSC induzieren kann²², dadurch kann der knochenheilende Effekt der MSC unterstützt/verstärkt werden und zusätzlich den MSC ein struktureller Halt geboten werden.

AUSBLICK

Optimierung der dargestellten Wirkungsweise und Herstellung von mesenchymalen Stromazellen

Neben dem erfolgreichen Einsatz von MSC in den verschiedenen Einsatzgebieten gibt es Bemühungen, die therapeutische Wirksamkeit der MSC zu verbessern, indem das Zellpräparat im Herstellungsprozess mit Faktoren stimuliert wird, um z. B. vermehrt anti-entzündliche und regenerativ-wirkende Faktoren freizusetzen und damit das immunmodulatorische und regenerative Potenzial der MSC zu erhöhen^{12,44,77}. Die Quelle der MSC-Gewinnung (ASC, BMMSC etc.) könnte bereits einen Einfluss auf die therapeutische Wirksamkeit haben. Es wird postuliert, dass ASC den BMMSC bezüglich der Immunmodulation überlegen sind und bessere Ergebnisse in kli-



nischen Studien bei Wundheilungsstörungen erzielen⁷⁸. Die gentechnische Manipulation der MSC stellt eine weitere Alternative dar, um die Sekretion therapeutisch-wirksamer Faktoren zu verbessern und damit ihren therapeutischen Effekt zu verbessern. Um allerdings derartige Vorbehandlungen vorzunehmen ist es wichtig, den genauen Wirkmechanismus der MSC im spezifischen Krankheitsbild zu kennen. Präklinische und klinische Studien tragen dazu bei, die therapeutische Wirksamkeit der MSC auch gegenüber konventionellen Therapien zu bewerten.

Auch der Herstellungsprozess der MSC kann optimiert werden. Es wird an einer Automatisierung des Herstellungsprozess im geschlossenen System gearbeitet, um

die Herstellungsschritte zu standardisieren und die Herstellungskapazität zu erhöhen. Dies kann auch die Kosten reduzieren, da manuelle Arbeitsschritte wegfallen und keine Klasse „A-in-B“ Reinraumumgebung mehr erforderlich ist⁷⁴. Neben fetalem Kälberserum als dem klassischen Supplement der Zellkultur, gibt es heutzutage xenogenfreie Alternativen^{38,40,79,80}. Wir nutzen ein von uns hergestelltes wie Lysat aus Thrombozytenkonzentrat^{38,40,79,80} (siehe auch Beitrag hämotherapie Ausgabe 26). Um Risiken für den Patienten besser abschätzen zu können, wird die Verwendung eines chemisch definierten Zellkulturmediums zur Expansion der MSC und der Einsatz von MSC-abgeleiteten Exosomen (als zellfreie Alternative) angestrebt⁸¹.

Die Autoren



Dr. Elisa Maria Amann
GMP-Compliance Managerin
Institut für Klinische Transfusionsmedizin und
Immungenetik Ulm
elisamaria.amann@gmail.com



Dr. rer. medic. Markus Thomas Rojewski
Wissenschaftlicher Mitarbeiter
Universität Ulm und Institut für Klinische
Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm
markus.rojewski@uni-ulm.de



Prof. Dr. rer. nat. Karen Bieback
Leiterin der Arbeitsgruppe Experimentelle
Zelltherapie
Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie,
Medizinische Fakultät Mannheim, Universität
Heidelberg
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg –
Hessen gemeinnützige GmbH
karen.bieback@medma.uni-heidelberg.de



Prof. (apl.) Dr. med. Patrick Wuchter
Facharzt für Innere Medizin, Schwerpunkt
Hämatologie und Internistische Onkologie
Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Mannheim
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg –
Hessen gemeinnützige GmbH
p.wuchter@blutspende.de



Prof. Dr. med. Halvard Böning
Professor für Translationale Entwicklung von
Zelltherapeutika, Institut für Transfusionsmedizin und
Immunhämatologie, Goethe Universität Frankfurt
und Leiter der Abteilung für Zelltherapeutika / Cell
Processing (GMP)
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg –
Hessen gemeinnützige GmbH, Institut für Frankfurt
am Main, h.boenig@blutspende.de



PD Dr. med. Dr. med. habil. Richard Schäfer
Leiter der Abteilung für Zelltherapeutika / Cell
Processing (GMP)
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg –
Hessen gemeinnützige GmbH
r.schaefer@blutspende.de



Dr. Thomas Appl
Projektmanager
DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg –
Hessen gemeinnützige GmbH
Institut für Transfusionsmedizin und
Immunhämatologie Frankfurt am Main
t.appl@blutspende.de



Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier
Facharzt für Transfusionsmedizin und Facharzt
Innere Medizin, Schwerpunkt Hämatologie und
internistische Onkologie, Ärztlicher Direktor des
Instituts für Transfusionsmedizin der Universität
Ulm und Ärztlicher Leiter des Instituts für Klinische
Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm gGmbH
h.schrezenmeier@blutspende.de

Die Literaturhinweise zu diesem Artikel finden Sie im Internet zum
Download unter: www.drk-haemotherapie.de