

Reisebericht

Kongress und Studienaufenthalt zum therapeutischen Einsatz von (Leber-) Zelltransplantationen in der Chirurgie

Die Auszeichnung mit dem Gerd-Hegemann-Reisestipendium 2005 ermöglichte es mir, mehrere Zentren in den USA und Europa zu besuchen, an denen Zelltransplantationen, im speziellen Leberzell-Transplantationen an Patienten durchgeführt wurden oder Klinische Studien zum therapeutischen Einsatz in Planung bzw. Durchführung sind. In Verbindung mit dem Besuch zweier Kongresse, die Schwerpunkte mit dem Thema Zelltransplantation beinhalteten („*World Transplant Congress*“ in Boston vom 22. -27. Juli 2006 sowie der „*First European Meeting on Human Hepatocyte Transplantation*“ in Valencia, Spanien vom 10. bis 11. November 2006), konnte ich mir einen guten Überblick über die bisherigen (hepato-)zellulären Transplantationsaktivitäten und Perspektiven bilden. Folgende Zentren wurden besucht:

- **Department of Pathology, University of Pittsburgh School of Medicine**, Pittsburgh, Pennsylvania (Prof. S. Strom)
- **Thomas E. Starzl Transplantation Institute, University of Pittsburgh**, USA. (Prof. S Ghandi)
- **Department of Surgery, Division of Transplantation, University of Nebraska Medical Center**, Omaha, Nebraska, USA (Prof. I Fox)
- **Division of Transplantation, Department of Surgery, University of Minnesota**, Minneapolis, USA. (Prof. D. Sutherland und Prof. B. Hering)
- **Department of Surgery, Mayo Clinic**, Rochester, USA (Prof. S. Nyberg)
- **Division of Health Sciences and Technology, Massachusetts Institute of Technology**, Cambridge, Massachusetts USA. (Prof. S. Bhatia)

Bevor ich auf meine persönlichen Erfahrungen an den besuchten Zentren zurückkomme und berichte, möchte ich einen kurzen Überblick über die historisch in der Literatur beschriebenen bisherigen Erfahrungen einer Leberzelltransplantation im klinischen Einsatz geben und diese im Weiteren mit den persönlichen Erlebnissen und Erfahrungen der Studienaufenthalte besprechen.

Die therapeutische Übertragung von menschlichen Zellen ist als Bluttransfusion zum ersten Mal vor 350 Jahren durchgeführt worden, meistens mit tödlichem Ausgang. Erst durch die Entschlüsselung des ABO-Blutgruppensystems 200 Jahre später wurde sie in der Klinik etabliert.

Die eigentlich naheliegende Übertragung ortständiger Zellen parenchymatöser Organe wie der Leber konnten bisher keinen etablierten Einzug in die Klinik finden.

Die Erfolge der Organtransplantation mit ihren guten Langzeitergebnissen stellen hier eine hohe Messlatte für diese neuen zellbasierten Therapien wie Inselzell- und Leberzelltransplantation dar. Das Problem dabei ist, dass die Organtransplantation für immer weniger Patienten verfügbar wird.

Die ersten wissenschaftlich experimentellen Grundlagen, die in den vergangenen 20 Jahren die klinische Etablierung einer Leberzelltransplantation rechtfertigen, wurden an der University of Minnesota in Minneapolis erarbeitet. *Matas*, Transplantationschirurg in Minneapolis, konnte bereits 1976 erstmals im Tierversuchmodell zeigen, dass über die Pfortader in die Leber transplantierte Hepatozyten eine genetisch determinierte, metabolische Insuffizienz korrigieren können. Dabei verwendete er das Modell der Gunn-Ratte, ein Korrelat für das humane Crigler-Najjar-Syndrom Typ I und ein Enzymdefekt der Bilirubin UDP Glucuronyltransferase, welcher zur insuffizienten Bilirubinausscheidung führt. Durch die Transplantation von Leberzellen gesunder Kontrolltiere wurden die Plasmabilirubinkonzentrationen im Beobachtungszeitraum von drei Monaten signifikant reduziert. Fazit dieser tierexperimentellen Arbeiten war, dass transplantierte Leberzellen überleben und metabolische Störungen *in vivo* korrigieren können!

Die erste klinische Anwendung erfolgte 1992 in Japan, bei der die erste autologe Leberzelltransplantation bei zirrhotischen Patienten in die Milz durchgeführt wurde. Die transplantierten Zellen waren dort als in das Parenchym integrierte funktionelle Organellen noch nach einem halben Jahr nachweisbar.

1994 wurde in den USA über die erste leberspezifische *ex vivo* Gentherapie berichtet. Dabei wurde bei Patienten mit einer familiären Hypercholesterinämie zunächst eine Lobektomie durchgeführt, daraus Leberzellen isoliert und diese dann *in vitro* über einen retroviralen Gentransfer des humanen LDL Rezeptors therapiert und anschließend über eine Mesenterialvene wieder in die Leber transplantiert. Es zeigte sich eine laborchemische Verbesserung, jedoch war nach vier Monaten die transgene Proteinexpression kleiner 5 %.

Fazit dieser ersten klinischen Versuche war die komplikationsfreie Machbarkeit der Leberzelltransplantation am Patienten.

Der aktuell in der Fachliteratur veröffentlichte Erfahrungshorizont beschränkt sich auf 78 Leberzelltransplantationen in 72 Patienten bei 25 verschiedenen Indikationen an 13 Zentren in 9 Ländern. Alle Veröffentlichungen sind Fallberichte, Evidenzstufe Grad 5.

Die Zusammenschau der bisherigen klinischen Ergebnisse zeigt: Alle klinischen Leberzelltransplantationen zeigten eine Verbesserung der klinischen Symptome, keine konnte jedoch eine vollständige, langfristige Verbesserung erreichen.

Diese Bilanz erscheint auf den ersten Blick enttäuschend, doch durch die Pionierleistungen der erwähnten klinischen Fallberichte ist eine Vielzahl von Problemen identifiziert worden!

Betrachtet man näher, welche Zellen eigentlich bisher transplantiert wurden, so ist festzustellen, dass es sich in der Regel um allogene Zellen handelt, die aus explantierten Lebern isoliert wurden, die der Chirurg wegen schlechter Organqualität als nicht transplantabel ablehnte und teilweise noch gelagert, versendet und eingefroren waren.

Der Idealfall wären intakte autologe oder nicht-immunogene Leberzellen mit Überlebensvorteil gegenüber den kranken Zellen.

Ein weiteres Problem stellt die Anzahl (funktionelle Masse) der transplantierten Zellen dar: Von 100 Millionen bis 1 Milliarden Zellen - das entspricht etwa 2 ml bzw. 20 ml Zellpellet in Suspension. Würden alle Zellen, die transplantiert werden, sich in der Leber „einnisten“, würde wahrscheinlich diese Zellzahl ausreichen! Doch abgesehen von der Vorschädigung der Zellen im Rahmen der

Gewinnung stellt die sinusoidale Barriere die größte Hürde für eine Integration des „Transplantats“ dar. Einen weiteren Mechanismus, der das „Transplantat“ funktionell vermindert ist, stellt die Situation dar, dass das Immunsystem (ortsständige NK-Zellen, Kupffersche Sternzellen) diese Zellen als fremd erkennt und zerstört.

Darüber hinaus schädigen Hypoxie und Ischämie die Funktionalität der transplantierten Zellen. Und danach haben noch 5-10% der transplantierten Zellen überlebt, die dann funktionell höchst komplexe metabolische Aufgaben kompensieren oder eine nicht funktionierende Regeneration wieder in Gang bringen sollen.

Auf dem *World Transplant Congress* in Boston wurde in mehreren Sitzungen das Thema Zelltransplantation behandelt. Dabei lagen die Schwerpunkte im Bereich der Leberzelltransplantation, der Transplantationsort (orthotop in die Leber versus andere Organe, wie Milz oder Omentum majus) sowie vor allem die klinischen Indikationen („*Bridge to transplant*“, „*Bridge to regeneration*“) oder eine Korrektur eines genetischen Enzymdefektes (Crigler-Najjar-Syndrom, Ornithindecarboxylase-Defekte und Glukogenspeicherkrankheiten). Darüber hinaus wurde in einer Sitzung kritisch diskutiert, dass bisher keine randomisierten Studien zur Zelltransplantation durchgeführt wurden.

Im Anschluss an den Kongressbesuch in Boston ging es weiter an die University of Pittsburgh, wo bereits am Abend in einem informellen Treffen mit *Prof. Steven Strom*, welcher dort am Institut für Pathologie seit mehreren Jahren im Rahmen der Zellisolation und Zellaufbereitung zur Transplantation maßgebliche Arbeiten geleistet hat, ein interessanter Erfahrungsaustausch erfolgte. Der darauf folgende Tag begann mit einem Kurzreferat, welches ich in der Arbeitsgruppensitzung von *Herrn Prof. Strom* unter Einladung mehrerer Kollegen aus dem *Thomas E. Starzl Transplantation Institute*, die sich ebenfalls auf Modelle zur Untersuchung von Leberregeneration spezialisierten, vortragen konnte. Im Anschluss wurde mir die Möglichkeit gegeben, die Labore und die Zellaufbereitungs-*Facilitys* zu besuchen und mir ein umfangreicheres Bild über die experimentellen Möglichkeiten zu machen. Am Nachmittag folgte dann ein Kurzbesuch im *Thomas E. Starzl Transplantation Institute* und Besichtigung der Labore sowie Diskussionen und vorbereitende Gespräche für mögliche wissenschaftliche Kooperationen. Besonders beeindruckend war die gastfreundschaftliche Betreuung durch *Prof. Steven Strom*, der mich Samstag Abend zu einem Baseballspiel der *Pittsburgh Pirates* im Vierzigtausend-Zuschauer-Stadion vor der Skyline von Pittsburgh einlud.

Am nächsten Tag setzte ich meine Reise per Flugzeug in das 40°C heiße Omaha, Nebraska fort, um dort *Prof. Ira Fox* zu besuchen. Er hat weltweit bisher die meisten Leberzelltransplantationen an Patienten durchgeführt.

Besonders beeindruckend war die Teilnahme an der klinischen Visite in der Kindertransplantation der University of Nebraska. Es wurden hier Kinder, die Dünndarm- oder teilweise kombiniert Dünndarm- und Leber transplantiert waren, im Alter zwischen sechs Monaten und acht Jahren in unterschiedlichen Abständen nach Transplantation betreut. An dem *Nebraska Medical Center* werden jährlich zirka 50 Dünndarmtransplantationen, teilweise kombiniert mit einer Lebertransplantation, vor allem bei Kindern durchgeführt. *Prof. Fox* zeigte mir die aktuell experimentell laufenden

Untersuchungen in seinem Labor zur Zellbesiedelung von humanen Leberzellen im Rattenmodell sowie aktuelle Untersuchungen an Primaten zur klinischen Zelltransplantation nach toxischem Leberversagen.

Besonders betonen möchte ich die offene und engagierte Diskussion und das wiederholte Angebot eines wissenschaftlichen Austausches durch *Prof. Fox*, der seit mehreren Jahrzehnten als Pionier der Leberzelltransplantation gilt.

Nach den spannenden drei Tagen an der University of Nebraska ging es per Auto im Rahmen einer siebenstündigen Autofahrt von Nebraska nach Minneapolis, wo ich für weitere vier Tage die Klinik für Transplantation, im Speziellen die Arbeitsgruppe von *Prof. David Sutherland* und *Prof. Bernhard Hering* besuchte. Arbeitsschwerpunkt der Klinik in Minneapolis stellt die Inselzelltransplantation dar. Schwierigkeit der Inselzelltransplantation ist die hohe Immunogenität der Inseln, weswegen die Probleme der Abstoßung und damit Transplantatverlust sowie das *Engraftment* eine noch viel bedeutendere Rolle als bei der Hepatozytentransplantation darstellen.

Nach den vier Tagen Aufenthalt an der *University of Minnesota* in Minneapolis schloss sich nach einer zweistündigen Autofahrt das nächste Ziel, die *Mayo Clinic* in Rochester an. Dort besuchte ich die Arbeitsgruppe von *Prof. Scott Nyberg*, der an Modellen und klinischen Studien zum akuten Leberversagen arbeitet. Im Rahmen eines Institutsseminars konnte ich über die eigenen Erfahrungen der bis dahin durchgeführten 500 Leberzellisolationen in den letzten acht Jahren berichten.

Nach zwei Tagen Aufenthalt an der *Mayo Clinic* und Besichtigung der eindrucksvollen „Medizinfabrik“ fuhr ich im Anschluss wieder zurück nach Minneapolis, um dort mit dem Flugzeug die Rückreise nach Boston anzutreten.

Dort erfolgte noch ein Besuch bei Frau *Prof. Sangeta Bhatia*, die am MIT eine Arbeitsgruppe leitet und an Zellkulturtechniken, die beispielsweise ein verbessertes Engraftment zu transplanzierender Zelle ermöglichen ließen, arbeitet. Bereits vorausgegangen war eine Zusammenarbeit mit *Frau Prof. Bhatia*, unterstützt durch die Bayerische Wissenschaftsförderung, zur möglichen Kokultivierung von Leberzellen und nicht-parenchymalen Zellen, um eine Funktionssteigerung dieser Zellen zu erreichen.

Ein für die umfassende Beschäftigung mit der Thematik erfreuliches Ereignis war, daß drei Monate später durch eine spanische Arbeitsgruppe, namentlich *Prof. Jose Castell*, in Valencia ein erstes europäisches Treffen mit dem Thema „Humane Hepatozytentransplantation“ organisiert wurde, wodurch teilweise ein Wiedersehen mit den amerikanischen Gastgebern möglich wurde. Dabei wurden aktuelle Ergebnisse zum Potential alternativer Zellquellen beispielsweise embryonaler Stammzellen bzw. adulter Stammzellen diskutiert. Darüber hinaus wurde ein Überblick über die aktuellen klinischen Studien am **King's College Hospital** in London vorgestellt. Wesentlicher Punkt dieses ersten europäischen Treffens war die Einführung eines **Hepatozyten-Transplantations-Registers** initiiert auf europäischer Ebene, um die weltweiten Aktivitäten zu bündeln und hier mit einer einheitlichen Stimme die Ansätze der klinischen Leberzelltransplantation voranzubringen.

Auf diesem Treffen wurde auch die erste offen randomisierte, prospektive, kontrollierte multizentrische Studie zur Applikation von humanen heterologen Leberzellen SELICA I (**Safety and Efficacy of Liver Cell Application in Acute Liver Failure**) initiiert und vorgestellt, die ausgehend von der Arbeitsgruppe von *Herrn Prof. Ott* und *Prof. Manns* in Hannover mittlerweile an verschiedenen Deutschen Kliniken mit hepatobilärem Schwerpunkt durchgeführt werden soll.

Inhaltlich zusammengefasst hat eine Leberzelltransplantation folgende Ziele:

- **Funktionelle Unterstützung**
- **Förderung der Leberregeneration**
- **Korrektur der metabolischen Störungen**

Vorteile dieses Verfahrens wären die bessere Verfügbarkeit einer kausalen Therapie vor dem Hintergrund eines weiter ansteigenden Organmangels (eine im Vergleich zum chirurgischen Trauma einer Organtransplantation die wesentlich einfachere Applikationsform), beispielsweise transkutan oder über einen transjugulären Katheter analog zum TIPS, sowie vor dem Hintergrund des Kostendrucks im Gesundheitswesen eine deutlich kosteneffektivere Therapieoption.

Meine eigenen Schlussfolgerungen der Studienaufenthalte zu den zukünftigen Aufgaben der wissenschaftlichen und klinischen Aktivitäten sind folgende:

- Die Notwendigkeit der Vernetzung der Zentren und damit verbunden der Aufbau eines Registers zur standardisierten Dokumentation
- Initiierung von kontrollierten klinischen Studien
- Aufbau einer Zelllogistik, d.h. Optimierung der Zellqualität, Zellquelle, Gewinnung, Lagerung und Qualitätskontrolle
- Experimentelle Expertise zur Optimierung des "Engraftments" der transplantierten Zellen
- Verbesserung der Nachweisverfahren der transplantierten Zellen für eine Effektivitätsbeurteilung

Insgesamt war die Zeit an den verschiedenen Kliniken in den Vereinigten Staaten eine große Bereicherung für mich. Ich konnte wesentliche neue Erkenntnisse über den aktuellen Stand der klinischen Zelltransplantation, im Speziellen von Leberzellen erhalten und experimentelle Techniken sowie Einblicke in geplante klinische Studien erwerben und im kollegialen Dialog kritisch diskutieren. Die äußerst freundschaftliche Aufnahme und Betreuung während des gesamten Aufenthaltes an sämtlichen besuchten Kliniken und Instituten sowie auch die in den privaten Bereich hineinreichende Gastfreundschaft beeindruckte mich zutiefst. An dieser Stelle möchte ich mich auch bei der Vereinigung der Bayerischen Chirurgen und dem Auswahlgremium für die Auszeichnung des Gerd-Hegemann-Stipendiums mit bedanken. Ich bin sicher, dass die erworbenen Kenntnisse, Informationen und Anregungen in mein tägliches klinisches und vor allem experimentelles Arbeitsgebiet eingehen werden.

Zum Schluss möchte ich meine persönliche Einschätzung zum aktuellen Stand der Leberzelltransplantation wiedergeben:

Obwohl die Zelltransplantation als *die* logische Weiterentwicklung der Organtransplantation erscheint und bereits vor zirka 25 Jahren die ersten experimentellen und klinischen Schritte durchgeführt wurden, wird es weitere 25 Jahre an konsequenter experimenteller und klinisch-wissenschaftlicher Arbeit bedürfen, bis sie eine klinisch etablierte Therapieoption in der Behandlung einer Vielzahl von Lebererkrankungen wird!

PD Dr. med. Wolfgang E. Thasler

Oberarzt der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
am Klinikum Großhadern
Leiter der Arbeitsgruppe Leberregeneration
Ludwig-Maximilians-Universität München
Marchioninistr 15
81377 München

wolfgang.thasler@med.uni-muenchen.de