



# Klinische Zellbiologie und FACS Core Unit

Univ.Doz. Dr. Gerhard Fritsch

## Stammzellforschung, durchflußzytometrische Phänotypisierung und immunologische Hämato-Onkologie

Seit 1989 liegt das Hauptarbeitsgebiet unserer Gruppe in der durchflußzytometrischen Zellmessung. Zunächst konzentrierten wir uns primär auf die Quantifizierung und Charakterisierung hämatopoetischer Stamm- und Vorläuferzellen (Fritsch et al. 1993)<sup>1</sup>. Seit 1995 setzen wir die Zytometrie aber auch ein, um alle anderen Leukozytentypen quantitativ anzusprechen. Im Lauf der Jahre wurden immer wieder unterschiedliche Arten der Probenpräparation gegeneinander ausgetestet, aber auch unterschiedliche Messverfahren angewendet, mit dem Ziel, alle in Blut und Knochenmark enthaltenen Leukozyten-Typen möglichst quantitativ zu bestimmen. Eine spezielle Art der Zellpreparation ermöglicht seit 10 Jahren die routinemäßige Leukozytentypisierung auch in zellarmem Blut, was vor allem Patienten nach Knochenmarkstransplantation zugutekommt (Fritsch et al. 1997<sup>2</sup>; Fritsch et al. 1999)<sup>3</sup>. Als Basis für alle Messungen diente seit 1996 routinemäßig die 4-Farben-Analyse, von der jährlich etwa 30.000 durchgeführt werden. Nach zweijähriger Validierungsphase sind wir nun auf die „Multi-Color“ Analyse mit bis zu zehn Farben umgestiegen, um die Phänotypisierung von Leukozyten und insbesondere ihrer Subpopulationen, sowie die Typisierung von Leukämien weiter zu optimieren.

Angeregt durch einen offensichtlichen Bedarf institutsexterner Stellen an Qualitätskontrollen bei humanen Blutprodukten (Plasma, Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentrate) konnten wir kürzlich eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Restzellen etablieren: Residuelle Leukozyten, Erythrozyten oder Plättchen sind hiermit bis zu einer Konzentration von (je nach Zelltyp) <1-10 Zellen pro µl mit hoher Genauigkeit durchflußzytometrisch zu erfassen. (Pichler et al. 2002)<sup>4</sup>.

---

<sup>1</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7683216?dopt=Abstract>

<sup>2</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9280320?dopt=Abstract>

<sup>3</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20426555>

<sup>4</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12210603?dopt=Abstract>



Die klinische Positivselektion von blutbildenden Stammzellen vor HLA-nicht passender allogener Transplantation wurde bislang an 139 Aphereseprodukten durchgeführt ([Fritsch et al. 2000](#))<sup>5</sup>. Derzeit laufende Untersuchungen zielen auf eine weitere Optimierung der zelltherapeutischen Behandlung unserer Patienten ab. Seit 1997 ist das Labor auch für die Stickstofflagerung von Stammzellpräparaten bzw. von Spender-Lymphozyten für dosierte DLIs verantwortlich.

Das Monitoring des Spender/Empfänger Chimärismus nach allogener Stammzelltransplantation ist eine wichtige Hilfe, um der Erfolg der Transplantation zu überwachen. Hierzu werden die Blutzellen des Patienten mithilfe eines Zellsorters regelmäßig in 6-7 Subgruppen sortiert. Insgesamt werden jährlich etwa 4.000 dieser Zellpräparate hergestellt, die dann an andere Labors des Instituts weitergeleitet werden, wo mittels RT PCR oder FISH festgestellt wird, ob und zu welchem Prozentsatz sie Spender- oder Empfängergenotyp repräsentieren.

Auf dem Gebiet der pädiatrischen Hämato-Onkologie konnte in den letzten Jahren eine immunologische Methode entwickelt werden, welche es ermöglicht, bei Patienten mit akuter lymphoblastischer wie auch myeloischer Leukämie das Ansprechen auf Chemotherapie zu bestimmen. Diese Technik basiert auf Unterschieden in den Zelloberflächeneigenschaften, d.h. der Expression bestimmter Eiweißmoleküle durch Leukämiezellen verglichen zu normalen unreifen oder reifen Blutzellen, und ermöglicht dadurch den Nachweis von residuellen Leukämiezellen bis in den "minimalen Resterkrankungsbereich", d.h. bis auf 0,01% (= 1 leukämische Zelle pro 10000 normale Zellen). Die Methode wurde in den letzten Jahren im Rahmen einer österreichweiten Untersuchungsserie anhand von über 130 Patienten validiert. Die genannte Untersuchung ist die weltweit größte ihrer Art, welche an einem unselektionierten Patientenkollektiv bislang durchgeführt wurde, und zeigte die überragende prognostische Wertigkeit der Bestimmung des initialen Therapieerfolges auf der Basis hochsensitiver immunologischer Verfahren. Derzeit wird sie auf der Basis internationaler Studienzusammenschlüsse weiter verfeinert und an einem noch größeren Patientenkollektiv aus Österreich, Italien und Deutschland erprobt, um in Zukunft im klinischen Alltag angewendet werden zu können.

([Dworzak et al. 1998](#)<sup>6</sup>; [Dworzak et al. 1998](#)<sup>7</sup>; [Dworzak et al. 1999](#)<sup>8</sup>; [Dworzak et al. 2002](#)<sup>9</sup>)

---

<sup>5</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11441240?dopt=Abstract>

<sup>6</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9546313?dopt=Abstract>

<sup>7</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9787156>

<sup>8</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10210325>

<sup>9</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11877265?dopt=Abstract>