

# Fra skraldespandsfedt til lægemiddel

Efter en fedtsugning bliver fedtet normalt kasseret. Men hvor andre ser affald, ser Center for Gen- og Celleterapi muligheder.

AF:

CAMILLA  
HIMMELSTRUP HOLM

Bioanalytiker, Center for Gen- og Celleterapi, Blodbank og Immunologi, Aarhus Universitetshospital.

KIRSTEN RØNN  
BUNDGAARD

Bioanalytiker, Center for Gen- og Celleterapi, Blodbank og Immunologi, Aarhus Universitetshospital.

Center for Gen- og Celleterapi ved Blodbank og Immunologi, Aarhus Universitetshospital, arbejder vi med at fremstille stamcelleprodukter til kliniske forsøg. Som bioanalytiker er hovedopgaven selve fremstillingsarbejdet med stort fokus på renheden af både arbejdsprocesser og det færdige produkt. Vi arbejder på tværs af faggrupper for at få et klinisk projekt fra en idé til et produkt, der kan anvendes til patienter. Vores mål er at kunne udvikle et stamcellebaseret lægemiddel, der kan være til gavn for patientgrupper, der i dag er svære at behandle.

## Hvem er vi?

Center for Gen- og Celleterapi er nyetableret, og er Danmarks første af slagsen. Målet med centeret er at gøre celleterapi mere tilgængelig. Vi tilbyder en samlet pakke, hvor vi varetager processen omkring godkendelse og igangsættelse af kliniske projekter, vi fremstiller GMP-godkendte celleprodukter til patientbehandling, og vi tilbyder faglig sparring til forskere med interesse for området. Pt. er vi tre bioanalytikere og otte akademikere. Som bioanalytikere er vores primære rolle at stå for produktionen af celleprodukterne. Herunder bl.a. validering af udstyr, lokaler og processer.

## Mesenkymale stamceller til behandling

Mesenkymale stamceller er multipotente stamceller, hvilket betyder, at de kan differentiere til forskellige typer væv, herunder brusk, knogle og fedt. Viden om mesenkymale stamceller og deres effekt er hele tiden under udvikling, men det er veletableret, at de har reparerende og immunregulerende effekter. De kan stimulere cellereparation og celledeling, hæmme celledød, stimulere dannelsen af nye blodkar og virke antiinflammatorisk.

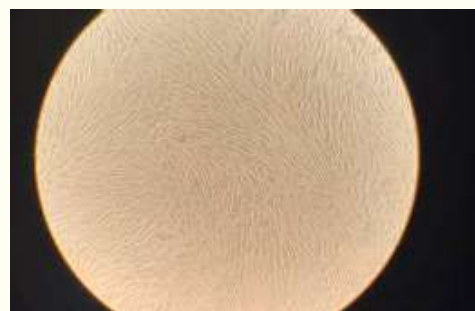
Mesenkymale stamceller findes ikke kun i knoglemarven, men er til stede i de fleste væv. Det gør dem mere tilgængelige, idet man kan bruge mindre invasive indgreb, når der skal anskaffes materiale at isolere fra. I vores arbejde isolerer vi cellerne fra suspenderet fedt, der udtages ved fedtsugning. Behandling med

stamceller kan enten være autolog eller allogen, afhængigt af om cellerne kommer fra patienten selv eller en donor. Hvad der vælges, varierer, alt efter hvilket projekt vi er i gang med.

Aktuelt arbejder vi på to kliniske projekter. I det ene får patienter med slidigt i ryggen en injektion af autologe stamceller. Håbet med projektet er at genoprette diskusvævet mellem ryghvirvlerne, så degeneration af diskus bremses eller helt stoppes. I det andet projekt behandler vi patienter med colitis ulcerosa, der er en kronisk betændelsestilstand i tyktarmen. I dette projekt er formålet at reducere graden af slimhindeinflammation ved at give injektioner af allogene stamceller forskellige steder i tarmen.



I mikroskopet kan morfologien af de mesenkymale stamceller ses. Ved pilen ses et fint eksempel på en enkeltliggende tenformet stamcelle. Samtidig med at morfologien tjekkes, rystes dyrkningsflasken let for at se, om cellerne sidder fast til bunden.



I takt med at cellerne deler sig, vil de ligge tættere og tættere. Når de ligger helt tæt som her, er de klar til at blive høstet og nedfrosset.

## FAGLIG

### Fra fedt til stamceller

Processen starter med, at patienten eller donoren får foretaget en fedtsugning. Fedtet suges op i en sprøjte, som vi modtager i laboratoriet. Herefter foregår alt arbejdet i et renrum for at sikre, at produktet ikke kontamineres.

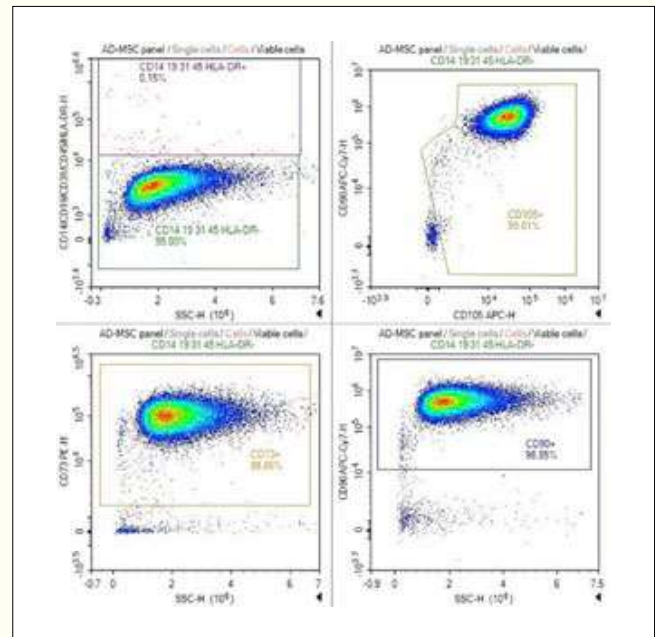
I renrummet isolerer vi stamcellerne fra fedtet. Stamcellerne overføres til en dyrkningsflaske med et vækstmedie og inkuberes, til de har delt sig til mange celler. Herefter fordeles disse celler ud i flere flasker, så de får et større areal at vokse på. Når vi vurderer, at der er nok celler i flaskerne, høster vi dem og fryser dem ned i cryotubes. Hele processen tager ca. halvanden uge. Sideløbende med dyrkningen af cellerne udføres en del it-registrering. Det er vigtigt ift. Sporbarhed, og så produktet kan udleveres korrekt.



Dyrkningsflasker i inkubator, hvor stamcellerne vokser og deler sig.

For at produktet kan anvendes, skal det overholde bestemte frigivelseskriterier. Et af dem er cellernes morfologi, som vi skal vurdere, hver gang vi håndterer dem. De skal være tenformede og kunne sætte sig fast til dyrkningsflasken.

Når cellerne er høstet, skal der udføres frigivelsesanalyser, ved at der skal laves karakteristisk af cellerne. Det er en flowanalyse, hvor vi undersøger, om cellerne har de positive overflademærkører (CD105, CD73, CD90), en mesenkymal stamcelle skal have. Vi undersøger også for nogle negative overflademærkører (CD14, CD19, CD31, CD45, HLA-DR), som cellerne ikke skal have. Celler med de markører er ikke stamceller og må højst udgøre 2 % af det færdige produkt. Derudover udtager vi prøver til mycoplasma, endotoxin og sterilitetstest for at teste produktets renhed.



Her ses et udklip af karakteristikanalysen for nogle høstede stamceller. Den første graf viser, at de negative overflademærkører kun sidder på 0,15 % af cellerne. De tre næste er for hver sin positive markør og findes alle på over 98 % af cellerne.

Når alle frigivelsesanalyser er udført og godkendt, frigives produktet. Klinikkerne sender os en rekvisition med data på den patient, de ønsker at give celler. Cellerne skal optøs og vaskes, inden de er klar til brug. Dette foregår også i vores renrum. Vi gør en sprøjte klar med den volumen og koncentration af celler, som er defineret til det pågældende kliniske forsøg. Sprøjten afleverer vi på den afdeling, hvor cellerne skal gives til patienten. Herefter skal produktet injiceres fx i tarmen inden for 4 timer.

### Renhed og kontamineringsrisiko under produktion

Da processerne i forbindelse med produktionen ikke foregår i et lukket system, er det altafgørende, at vi har styr på renheden i alle aspekter af processen. Derfor udføres arbejdet i et klassificeret renrum. Renrum klassificeres i forskellige renhedsklasser, hvor klasse A er det reneste. Renhedsklasse A kan kun opnås i en LAF-bænk. Der er krav til, hvor mange partikler der må være i luften i de forskellige renhedsklasser, og hvor mange mikroorganismer der må være i rummet. Det renrum, vi har, er klassificeret som AiB. AiB betyder, at en LAF-bænk er placeret i et klasse B-rum, og det er dermed det reneste rum, man kan arbejde i.

### Omkledning

For at komme ind i vores produktionslokale skal vi sluses ind gennem to forskellige sluser, hvor renhedsgraden stiger for hver sluse. Før vi går ind i slusesystemet, skal vi fjerne vores makeup og udføre håndhygiejne. Hvis man bærer briller, skal de vaskes i sterilt vand.

I den første sluse tager vi vores kittel af, udfører igen håndhygiejne, ifører os renrumsundertøj og tager håret og sterile handsker på. I den næste sluse iklæder vi os en renrumsdragt, mundbind og et ekstra sæt sterile handsker. Det er vigtigt, at vi

ikke kontaminerer ydersiden af dragten, mens vi iklæder os den, så vi må kun røre på indersiden.

### Hygiejnementoring

Hver gang vi udfører en proces i LAF-bænken, skal vi monitøre hygiejnen. Det gøres ved at have en partikeltæller ved siden af arbejdsområdet. Den fungerer som en lille støvsuger, der suger en kontrolleret mængde luft ind og tæller, hvor mange partikler der er. Vi har også to agarplader til at stå tæt ved vores arbejdsområde under hele processen. De sendes til dyrkning på mikrobiologisk afdeling, så vi kan se, om der har været mikroorganismer i LAF-bænken. Vi afslutter hver proces med at tage aftryk på agarplader af vores handsker og fra dragtens ærmer. Disse sendes ligeledes til dyrkning. Herved kan vi se, om der er risiko for, at vi har overført mikroorganismer til produktet.

### Forskning

Ud over at producere celleprodukter deltager vi også i diverse afprøvninger i forbindelse med planlægningen af forskellige projekter. Vi er blandt andet i gang med et omfattende opbevaringsforsøg, hvor vi undersøger, hvor længe stamcellerne kan holde sig, når de opbevares ved forskellige temperaturer. Vi tør en cryotube med celler op efter fastsatte tidsintervaller og måler bl.a., hvor mange levende celler der er tilbage, og om de stadig er funktionelle. Til sidst udsår vi cellerne i en flaske med vækstmedie for at se, om de stadig er i stand til at vokse og dele sig, og om de har den rigtige morfologi. Dermed kan vi se, under hvilke forhold stamcellerne har det bedst, og hvor lang tid man kan have et produkt opbevaret.

### En tværfaglig hverdag

I Center for Gen- og Celleterapi arbejder mange forskellige faggrupper sammen. Blandt andet molekylærmedicinere, bioteknologiingeniører, læger og bioanalytikere. Vi har et rigtig godt samarbejde med de akademikere, der er ansat i centeret. Vi byder ind med meget forskellige kompetencer og supplerer hinanden godt. Akademikerne har masser af gode idéer til ting, vi kan prøve af, og har ansvaret for at få de kliniske projekter godkendt og finansieret. Som bioanalytikere sørger vi for at få sat tingene i system og omsætte projekternes visioner til praksis. Vi oplever, at der er stor respekt omkring vores kompetencer som bioanalytikere.

### Fremtiden

Vores igangværende projekter er på forskningsstadiet. Det vil forhåbentlig vise sig, at behandlingen med de mesenkymale stamceller har en gavnlig effekt for patienterne og kan implementeres som en standardbehandling til de forskellige patientgrupper. Der er stor interesse for vores center, og mange klinikere står i kø for at få deres projekter sat i søen. Blandt andet vil klinikere fra ortopædkirurgisk afdeling undersøge, om mesenkymale stamceller kan lindre eller kurere slidigt i knæet, klinikere fra nyremedicinsk afdeling vil undersøge, om cellerne kan dæmpe immunforsvaret og hindre afstødning efter nyretransplantation, og klinikere fra kræftafdelingen vil undersøge, om cellerne kan reparere væv med stråleskader efter kræftbehandling. Vi håber, at Center for Gen- og Celleterapi med tiden vokser sig meget større! ■



Arbejdsuniformen i renrum er noget mere omstændelig end en standard-hospitalskittel. På billedet ses den grønne renrumsdragt, de blå renrumsstøvler, maske, handsker og håret. Dette er dog kun toppen af isbjerget. Under er et sæt langærmet renrumsundertøj, et ekstra sæt handsker og to par sokker. Det tager omkring 15 min. at blive fuldt omklædt og kræver både præcision og balance.



Arbejdet i LAF-bænken kræver rolige bevægelser, og at man undgår at række ind over cellerne eller råvarer, der ikke har låg på. Vi sørger for at opstille vores arbejdsplads i LAF-bænken, så vi arbejder fra urent til rent. Vi holder utensilier og affaldsbeholder i den ene ende og råvarer og det færdige produkt i den anden med arbejdsområdet i midten. På begge sider af arbejdsområdet er en nedfaldsplade placeret (se røde pile) til at opsamle eventuelle mikroorganismer, og i toppen af billedet kan indsugningen til partikeltælleren ses (grøn pil).