

Mobilisering af hæmatopoietiske stamceller med plerixafor

Overlæge Per Boye Hansen & ledende bioanalytiker Eva Gaarsdal

OVERSIGTSARTIKEL

Herlev Hospital,
Medicinsk Hæmatologisk
Afdeling L og Hæmatolo-
gisk Laboratorium

RESUME

Plerixafor (AMD3100) er en selektiv antagonist til en receptor på overfladen af de hæmatopoietiske stamceller. Denne receptor binder sig sædvanligvis til en ligand i knoglemarvens stroma, som er ansvarlig for *homing* og fastholdelse af stamcellerne her. Plerixafor er med held anvendt i kliniske forsøg til patienter med maligne lymfomer og myelomatose, hvor det ikke har været muligt at mobilisere stamceller med granulocyt-kolonistimulerende faktor mhp. leukaferese og senere stamcelletransplantation. Plerixafor er også med succes givet til raske donorer, som er høstet til allogene stamcelletransplantation.

Stimulering af myelopoiesen med rekombinante hæmatopoietiske vækstfaktorer ekspanderer knoglemarvens hæmatopoiese. Det er således velkendt, at korttidsstimulering med rekombinant humant granulocyt-kolonistimulerende faktor (rhG-CSF) eller granulocyt-makrofag-kolonistimulerende faktor (rhGM-CSF) øger knoglemarvens cellularitet af både modne og umodne myeloide celler og øger det totale antal af celleforstadier pr. volumen aspireret marv [1, 2].

Denne effekt har i en årrække været anvendt før knoglemarvshøst, hvor 4-5 dages subkutan behandling med rhG-CSF (Filgrastim), 5-10 mikrogram/kg/dag, har medført et øget antal høstede, kerneholdige celler [1]. Knoglemarvaspiration er nu stort set forladt ved autolog og allogene stamcelletransplantation, og i stedet anvendes perifer stamcellehøst (leukaferese). Ved denne procedure behandles patienterne i reglen med kemoterapi, og i dagene efter gives fem dages stimulering med rhG-CSF, ti mikrogram/kg/dag. Ved denne kombination øges antallet af hæmatopoietiske stamceller (HSC) i blodbanen, og udbyttet af stamceller ved leukaferese er fuldt på højde med »gammeldags knoglemarvshøst« [3]. Ved stamcellehøst mhp. allogene transplantation anvendes alene rhG-CSF til stimulering af doners knoglemarv og mobilisering af HSC til blodbanen.

I tilfælde, hvor patienterne har gennemgået flere serier kemoterapi, er det undertiden ikke muligt at mobilisere og opsamle et tilstrækkeligt antal stamceller ved konventionel behandling med rhG-CSF efter kemoterapi. En ny behandlingsmetode til patienter, som er dårlige til at mobilisere HSC er for nylig intro-

duceret. Principperne for denne behandling samt hidtidige resultater ved klinisk brug vil blive gennemgået i det følgende.

METODE

Artiklen er baseret på en litteratursøgning i Medline/PubMed ved anvendelse af følgende søgeord:

Plerixafor, AMD3100, stem cell transplantation, non-Hodgkin's lymphomas, multiple myeloma. Søgningen blev afsluttet i november 2008. Der er yderligere foretaget håndsøgning i litteraturlisten i de fundne artikler. Ved anvendelse af søgeordene i *Cochrane Library* fandtes ingen oversigtsartikler, der omhandlede det aktuelle emne.

PLERIXAFOR

Plerixafor (AMD3100) er et lille molekyle med en molekylvægt på 502,78 g/mol og en potent, selektiv antagonist, som reversibelt kan sætte sig på CXC-ke-mokinreceptor 4 (CXCR4). Som det fremgår af **Figur 1**, er CXCR4 en receptor på overfladen af HSC, som under normale omstændigheder binder til en ligand i knoglemarvens stroma, der benævnes stromacelleriveret faktor-1 α (SDF-1 α). Denne binding er ansvarlig for den sædvanlige *homing* af stamcellerne i knoglemarvens matrix og er en vigtig regulator for stamcellernes bevægelse fra marven til blodbane [4-7].

Ved indgift af plerixafor afbrydes og forhindres denne adhærence mellem receptor og ligand forbigående (Figur 1) [4-6]. Plerixafor blev oprindeligt testet som et muligt antiviralt medikament til behandling af hiv-infektion, idet plerixafor selektivt hæmmer hiv-replikationen ved at forhindre virus i at trænge ind i T-lymfocytterne [8, 9]. I disse undersøgelser på frivillige forsøgspersoner [8] og hiv-positive patienter [9] registrerede man imidlertid betydelig leukocytose, og det blev påvist, at en del af leukocytosen skyldtes frigørelse af *cluster of differentiation* (CD)34+-celler til blodbanen, hvor CD34 er en markør på overfladen af HSC. Efterfølgende har dyreforsøg, forsøg på frivillige forsøgspersoner og senest forsøg på patienter med hæmatologiske sygdomme vist en frigørelse af stamceller få timer efter indgift af plerixafor [7, 10-13].

KLINISKE FORSØG MED PLERIXAFOR

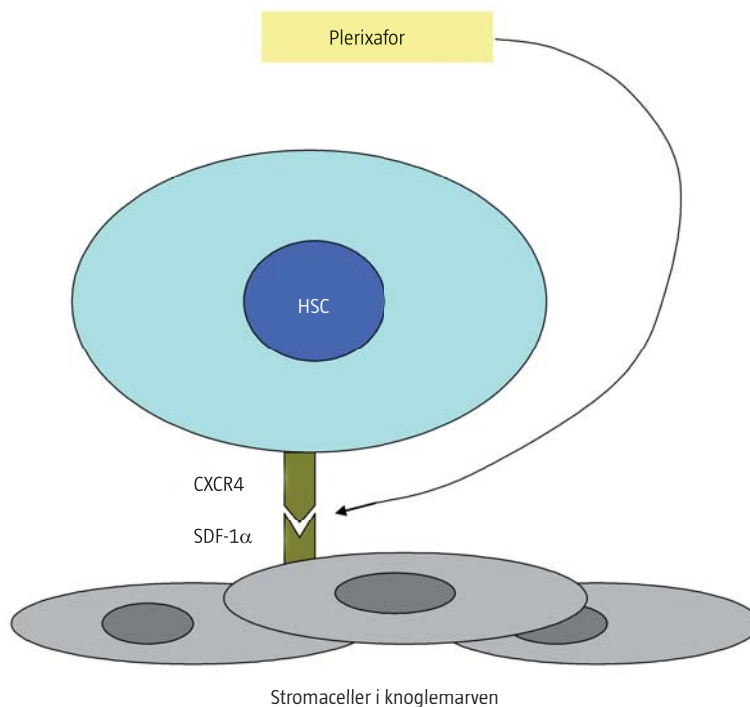
I undersøgelser på frivillige forsøgspersoner er der påvist en dosisafhængig frigørelse af HSC [8, 10, 11]. Den optimale dosis af plerixafor var i undersøgelserne 240 mikrogram/kg givet subkutant [10, 11]. Øget koncentration af stamcellerne kunne måles i blodet allerede 1-2 timer efter og nåede sit maksimum efter 6-10 timer, hvor antallet af CD34+-celler i blodet var over 15 gange udgangsværdien [10]. Der blev ikke registreret ændringer i antallet af erythrocytter og trombocytter i blodbanen [10]. Virkningen af en enkelt injektion af plerixafor ophører efter ca. 24 timer [8, 10-12].

Hos raske forsøgspersoner medførte en enkelt injektion af plerixafor efter fem dages behandling med rhG-CSF et signifikant højere antal CD34+-celler i leukafereseproduktet end ved rhG-CSF alene [12]. I samme undersøgelse var høstudbyttet identisk, når man sammenlignede en enkelt injektion af plerixafor (240 mikrogram/kg subkutant) med fem dages behandling med rhG-CSF. I en fase I-undersøgelse med hæmatologiske patienter, som tidligere var behandlet med kemoterapi, blev der givet plerixafor i doser på henholdsvis 160 mikrogram/kg og 240 mikrogram/kg subkutant [13]. I begge grupper fandtes allerede fire timer efter injektionen en signifikant stigning i antallet af CD34+-celler i blodbanen, og efter seks timer en stigning på syv gange udgangsværdien hos patienter, der var behandlet med 240 mikrogram/kg.

I en fase II-undersøgelse med patienter med non-Hodgkins lymfom og myelomatose, som tidligere var behandlet med kemoterapi, fandtes et signifikant øget antal HSC i blodbanen, når plerixafor blev kombineret med rhG-CSF frem for rhG-CSF alene [14]. Kombinationsbehandlingen medførte færre leukafeser for at opnå et sufficent antal stamceller til senere transplantation. I en undersøgelse, som omfattede ti patienter med relaps eller refraktært non-Hodgkins lymfom, blev der registreret en synergetisk effekt af kombinationen plerixafor og rhG-CSF [15]. Trods tidligere kemoterapi, hvor patienterne havde fået 1-2 regimer, var det var muligt at opsamle et tilstrækkeligt antal stamceller til transplantation hos alle patienterne inden for to dage. Patienterne blev transplanteret inden for to måneder, og i alle tilfælde var der hurtigt anslag af stamcellerne og en vel fungerende knoglemarv. To fase III-studier med henholdsvis non-Hodgkins lymfom og myelomatose viser entydigt, at kombinationen plerixafor og rhG-CSF medfører langt bedre mobilisering af HSC end behandling med placebo og rhG-CSF [16, 17]. I en nylig stor, prospektiv multicenterundersøgelse har man også anvendt kombinationen plerixafor og rhG-CSF

FIGUR 1

Pilen viser, hvor plerixafor selektivt og reversibelt sætter sig på en receptor på overfladen af den hæmatopoietiske stamcelle og derved forhindrer denne i at binde sig til en ligand i knoglemarvens stroma benævnt stromacellederiveret faktor-1 α .



CXCR4 = CXC-kemokinreceptor 4; HSC = hæmatopoietisk stamcelle; SDF-1 α = stromacellederiveret faktor-1 α .

som *compassionate use* til patienter med non-Hodgkins lymfom, myelomatose og Hodgkins lymfom [18]. Disse patienter havde gennemsnitligt modtaget to tidligere kemoterapiregimer og var dårlige til at mobilisere stamceller på traditionel vis. I alt 115 patienter blev behandlet dagligt med rhG-CSF (ti mikrogram/kg/dag) og fra dag fire om aftenen med plerixafor (240 mikrogram/kg/dag). På dag fem påbegyndtes leukaferese, og kombinationsbehandlingen fortsatte, indtil der var høstet et sufficent antal stamceller (dvs. $\geq 2 \times 10^6$ CD34+-celler/kg) eller til investigator skønnede, at det ikke var muligt at opsamle et tilstrækkeligt antal stamceller til transplantationen.

I alt lykkedes det i dette studie at opsamle et tilstrækkeligt antal stamceller hos 66% af patienterne, 60% med non-Hodgkins lymfom, 71% med myelomatose og 77% med Hodgkins lymfom. Der blev mediant udført leukaferese i tre dage. 76% af patienterne blev efterfølgende stamcelletransplanteret, og den mediane tid til absolut neutrofil $\geq 0,5 \times 10^9/l$ og trombocyt $\geq 20 \times 10^9/l$ var henholdsvis 11 og 18 dage [18].



FAKTABOKS

I tilfælde, hvor patienter har gennemgået flere serier kemoterapi eller omfattende strålebehandling, er det undertiden ikke muligt at mobilisere og opsamle et tilstrækkeligt antal hæmatopoietiske stamceller efter vanlige principper med kemoterapi og granulocyt-kolonistimulerende faktor mhp. senere autolog stamcelletransplantation.

Plerixafor er en ny stamcellefaktor, som virker ved at være en potent og selektiv antagonist til en receptor på overfladen af de hæmatopoietiske stamceller.

Øget koncentration af stamceller kan måles i blodet 1-2 timer efter en enkelt subkutan injektion af plerixafor. Virkningen når sit maksimum efter 6-10 timer og ophører efter ca. 24 timer.

Plerixafor er med held blevet anvendt i kliniske forsøg til patienter med maligne lymfomer og myelomatose, hvor det ikke har været muligt at mobilisere stamceller med granulocyt-kolonistimulerende faktor mhp. leukaferese.

Plerixafor er også med succes givet til mobilisering af stamceller fra søskendedonorer, som er høstet fire timer efter en enkelt injektion mhp. allogen stamcelletransplantation.

Senest er plerixafor anvendt uden rhG-CSF til mobilisering af stamceller fra søskendedonorer mhp. allogen stamcelletransplantation [19]. I denne undersøgelse blev 25 donorer behandlet med plerixafor, 240 mikrogram/kg subkutan, og fire timer senere blev der foretaget leukaferese. Hos 66% blev der høstet et tilstrækkeligt antal stamceller efter en enkelt plerixaforinjektion. Tyve patienter blev transplanteret, og der var hurtig knoglemarvsfunktion i alle tilfælde. Den mediane tid til absolut neutrofilital $> 0,5 \times 10^9/l$ og trombocytital $> 50 \times 10^9/l$ var henholdsvis 10 og 18 dage.

BIVIRKNINGER

Plerixafor tåles generelt godt. Hos frivillige forsøgspersoner [8, 10] og donorer, hvor plerixafor er anvendt alene mhp. høst til allogen stamcelletransplantation [19], er der registreret milde bivirkninger, som indtrådte umiddelbart i tilslutning til injektionen eller i de første timer herefter. Bivirkningerne var svimmelhed, hovedpine, kvalme, flatulens, løs afføring, let smerte eller varmekøbsfølelse ved injektionsstedet, periorale paræstesier, mundtørhed og svedtendens. Der blev i disse undersøgelser ikke registreret knoglesmerter [8, 10, 19]. Bivirkningerne i de kliniske undersøgelser kan være svære at adskille, da patienterne ofte samtidig er i behandling med rhG-CSF. Her blev der også registreret gastrointestinale gener i form af diaré, kvalme, opkastning og flatulens, samt hovedpine, artralgi, svimmelhed, søvnbesvær, hypotension og rødme, kløe og svie svarende til injektionsstedet [13, 15, 18].

DISKUSSION

Med opdagelsen af plerixafors virkningsmekanisme, hvor der frigives stamceller til blodbanen få timer efter en enkelt subkutan injektion, er der åbnet nye muligheder for opsamling af HSC med henblik på efterfølgende stamcelletransplantation. Denne behandling vil specielt være til gavn for patienter som pga. tidligere intensiv kemoterapi har været umulige at høste efter vanlige principper med kemoterapi og rhG-CSF. De foreløbige resultater hos denne gruppe patienter har været særdeles lovende, og kombinationsbehandling med plerixafor og rhG-CSF synes at have synergistisk virkning, hvor antallet af CD34+-celler i blodet øges signifikant sammenlignet med stimulering med rhG-CSF alene [14, 15]. Antallet af leukafereser har kunnet nedsættes, og ved efterfølgende stamcelletransplantation er der fundet hurtig knoglemarvsregeneration med kort neutropeni- og trombocytopeniperiode, som udtryk for god kvalitet af de høstede stamceller. Bruges plerixafor, evt. kombineret med rhG-CSF til patienter uden tidligere mobiliseringsproblemer, kan antallet af afereser ligeledes nedsættes. Man vil i disse tilfælde formentlig ofte undgå ekstra og undertiden unødvendig højdosiskemoterapi, som ellers har været anvendt i forbindelse med leukaferesen for at øge antallet af stamceller i blodet.

Pga. plerixafors egenskaber har det været nærliggende at forsøge stimulering af raske donorer mhp. mobilisering af HSC til allogen transplantation. Der foreligger indtil nu en sådan undersøgelse, hvor det hos to tredjedele af donorerne var muligt at høste et sufficient antal CD34+-celler fra blodbanen fire timer efter en enkelt subkutan injektion af plerixafor [19]. Dette er i kontrast til den traditionelle behandling, hvor donor får injektioner med rhG-CSF i 4-5 dage før stamcellehøsten. Behandlingen med rhG-CSF er således betydelig mere tidsrøvende, og ofte behæftet med bivirkninger i form af knoglesmerter og hovedpine, som ikke sjældent kræver behandling med analgetika.

Ud over at mobilisere benigne stamceller fra knoglemarven viser resultaterne fra kliniske studier, at plerixafor også kan øge antallet af leukæmiceller i blodbanen [20]. På baggrund af dette frarådes, at man ved leukæmi anvender plerixafor til mobilisering af stamceller mhp. høst, da der er øget risiko for opsamling af leukæmiceller i afereseproduktet.

I kliniske undersøgelser har man også hidtil været tilbageholdende med at give plerixafor til patienter med akut og kronisk leukæmi, myelodysplastisk syndrom og plasmacelleleukæmi. Dette skyldes frygten for stimulering af den maligne sygdom. Fremtidige kliniske undersøgelser må afgøre, om der ikke

tværtimod kan opnås en gunstig virkning på disse sygdomme ved at »forbehandle« med plerixafor, 6-10 timer før der påbegyndes intensiv konsoliderende kemoterapi mhp. den efterfølgende stamcelletransplantation. Man kan med denne behandling forestille sig, at plerixafor øger mobiliseringen af maligne stamceller fra knoglemarvens beskyttende stroma til blodbanen og dermed potenserer virkningen af kemoterapi. Denne mulige behandlingsstrategi må også kunne forventes at have gavnlige virkninger ved solide former for cancer med hyppig metastasering. Fremstilling af lignende antagonist, der er rettet mod *homing*-receptorer på overfladen af disse maligne celler vil således forhindre de metastaserende celler i at sætte sig fast i det rette mikromiljø. Ud over, at de cirkulerende maligne celler ved denne behandling i teorien vil være mere følsomme for efterfølgende kemoterapi, vil de måske »i deres hjemløshed« hurtigt gå til grunde i karbanen. Bivirkningerne til behandling med plerixafor har i de kliniske undersøgelser været minimale og består hyppigst i lette gastrointestinale gener samt svie og rødmen svarende til injektionsstedet.

Sammenfattende synes brugen af plerixafor i forbindelse med autolog og alloget stamcellehøst at være et væsentligt behandlingsfremskridt. Stimulering med denne stamcellefaktor og rhG-CSF øger således afereseproduktets indhold af CD34⁺-celler, hvorved antallet af afereser kan nedsættes. Der er fortsat tale om en eksperimentel behandling, som endnu ikke er godkendt i Danmark, og hovedindikationen har hidtil været til patienter, som er dårlige til at mobilisere stamceller med kemoterapi og rhG-CSF. Hidtil er kombinationen rhG-CSF og plerixafor blevet anvendt til 12 patienter i Norden, hvor det efterfølgende har været muligt at mobilisere og høste stamceller fra ti patienter (personlig meddelelse fra Genzyme A/S).

Fremtidige randomiserede, prospektive, kliniske undersøgelser må inden for de næste år forventes at afgrænse de kliniske indikationer for anvendelse af plerixafor. Herunder også hvorvidt anvendelse af denne stamcellefaktor umiddelbart før intensiv høj-dosis-kemoterapi kan optimere virkningen heraf og øge overlevelsen ved efterfølgende autolog og alloget stamcelletransplantation.

KORRESPONDANCE: Per Boye Hansen, Medicinsk Hæmatologisk Afdeling L, Herlev Hospital, DK-2730 Herlev. E-mail: peboha01@heh.regionh.dk

ANTAGET: 3. februar 2009

INTERESSEKONFLIKTER: Ingen

LITTERATUR

1. Johnsen HE, Hansen PB, Plesner T et al. Increased yield of myeloid progenitor cells in the bone marrow harvested for autologous transplantation by pretreatment with recombinant human granulocyte-colony stimulating factor. *Bone Marrow Trans* 1992;10:229-34.
2. Johnsen HE, Jensen L, Gaarsdal E et al. Priming with recombinant human hematopoietic cytokines before bone marrow harvest expands in vivo and enhances ex vivo recovery of myeloid progenitors in short-term liquid cultures. *Exp Hematol* 1994;22:80-6.
3. Molineux G, Pojda Z, Hampson IN et al. Transplantation potential of peripheral blood stem cells induced by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1990;76:2153-8.
4. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol* 2002;30:973-81.
5. Pelus LM, Horowitz D, Cooper SC et al. Peripheral blood stem cell mobilization: a role for CXCR4 chemokines. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002;43:257-75.
6. Fruehauf S, Seggewiss R. It's moving day: factors affecting peripheral blood stem mobilization and strategies for improvement. *Br J Haematol* 2003;122:360-75.
7. Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp DW et al. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med* 2005;201:1307-18.
8. Hendrix CW, Flexner C, MacFarland RT et al. Pharmacokinetics and safety of AMD-3100, a novel antagonist of the CXCR-4 chemokine receptor, in human volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1667-73.
9. Hendrix CW, Collier AC, Lederman MM et al. Safety, pharmacokinetics, and antiviral activity of AMD3100, a selective CXCR4 receptor inhibitor, in HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37:1253-62.
10. Liles WC, Broxmeyer HE, Rodger E et al. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood* 2003;102:2728-30.
11. Lack NA, Green B, Dale DC et al. A pharmacokinetic-pharmacodynamic model for the mobilization of CD34⁺ hematopoietic progenitor cells by AMD3100. *Clin Pharmacol Ther* 2005;77:427-36.
12. Liles WC, Rodger E, Broxmeyer HE et al. Augmented mobilization and collection of CD34⁺ hematopoietic cells from normal human volunteers stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor by single-dose administration of AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Transfusion* 2005;45:295-300.
13. Devine SM, Flomenberg N, Vesole DH et al. Rapid mobilization of CD34⁺ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2004;22:1095-102.
14. Flomenberg N, Devine SM, DiPersio JF et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood* 2005;106:1867-74.
15. Gazitt Y, Freytes CO, Akay C et al. Improved mobilization of peripheral blood CD34⁺ cells and dendritic cells by AMD3100 plus granulocyte-colony-stimulating factor in non-Hodgkin's lymphoma patients. *Stem Cells Dev* 2007;16:657-66.
16. DiPersio JF, Micallef I, Stiff PJ et al. A phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo controlled, comparative trial of AMD3100 (Plerixafor)+G-CSF vs. placebo+G-CSF in non-Hodgkin's lymphoma (NHL) patients for autologous hematopoietic stem cell (aHSC) transplantation [abstract]. *Blood* 2007;110:185a; Abstract 601.
17. DiPersio J, Stadtmayer EA, Nademanee AP et al. A phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, comparative trial of AMD3100 (Plerixafor)+G-CSF vs. G-CSF+placebo for mobilization in multiple myeloma (MM) patients for autologous hematopoietic stem cell (aHSC) transplantation [abstract]. *Blood* 2007;110:137a; Abstract 445.
18. Calandra G, McCarty J, McGuirk J et al. AMD3100 plus G-CSF can successfully mobilize CD34⁺ cells from non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's disease and multiple myeloma patients previously failing mobilization with chemotherapy and/or cytokine treatment: compassionate use data. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:331-8.
19. Devine SM, Vij R, Rettig M et al. Rapid mobilization of functional donor hematopoietic cells without G-CSF using AMD3100, an antagonist of the CXCR4/SDF-1 interaction. *Blood* 2008;112:990-8.
20. Burger M, Hartmann T, Krome M et al. Small peptide inhibitors of the CXCR4 chemokine receptor (CD184) antagonize the activation, migration, and antiapoptotic responses of CXCL12 in chronic lymphocytic leukemia B cells. *Blood* 2005;106:1824-30.