



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Untersuchung zur Co-Transplantation von hämatopoetischen und mesenchymalen Stammzellen aus Nabelschnurblut im NOD/SCID-Mausmodell

Autor: Christian Keßler
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. H. Eichler

Die vorliegende Arbeit untersuchte den Einfluss von humanen mesenchymalen Stammzellen (MSC) auf das *Engraftment* humaner CD34⁺ hämatopoetischer Stammzellen im NOD/SCID Mausmodell. Beide Zellpopulationen wurden aus ein und demselben Plazentarestblut (Nabelschnurblut, *umbilical cord blood*) gewonnen. Es wurden 97 Nabelschnurblute prozessiert. Die Tiere wurden vor Transplantation mit 1,6 Gy subletal bestrahlt. Die Analyse erfolgte mittels Durchflußzytometrie und einer neu etablierten quantitativen Real-Time-PCR. In mehreren Experimenten wurde eine durchflußzytometrische Nachweisgrenze von 0,5% humanem Zellanteil in einer Suspension von murinen und humanen Zellen detektiert sowie eine benötigte Transplantationsdosis von 5×10^4 CD34⁺ Zellen mittels eines *limiting dilution assays* definiert. Die erfolgreiche Gewinnung und anspruchsvolle *in vitro* Expansion von MSC's auf mindestens 3×10^6 Zellen/Experiment stellte aufgrund ihrer geringen Frequenz im *cord blood* von ca. 2,3 MSC's pro 1×10^8 mononukleäre Zellen eine besondere Herausforderung dar. Es gelang in n=5 Fällen die erforderliche Zellzahl mesenchymaler Stammzellen zu gewinnen. Zur eindeutigen Identifikation dienten ihre fibroblastoide Morphologie sowie etablierte Differenzierungsansätze in verschiedene mesodermale Gewebe. Es konnte eine Differenzierungsfähigkeit von Nabelschnurblut-MSC's in osteogenes und chondrogenes, jedoch nicht in adipogenes Gewebe gezeigt werden. Der *Engraftment*-vergleich von MSC/CD34⁺ Zellen gegen die alleinige Transplantation CD34⁺ Zellen konnte weder in der durchflußzytometrischen Analyse, noch in der quantitativen Real-Time-PCR-Analyse einen signifikanten Unterschied aufzeigen. Bei durchflußzytometrischer Analyse der entstanden Subpopulationen konnten bei CD45⁺/CD33⁺ und CD45⁺/CD41⁺ Zellen ein signifikant vermehrtes Vorkommen in der mit CD34⁺/MSC transplantierten Gruppe gezeigt werden. Humane CD19⁺ B-Lymphozyten waren in beiden Gruppen die vorherrschende Zellpopulation. Eine weitere Versuchsreihe untersuchte das *homing* Verhalten mesenchymaler Zellen. Es sollte geklärt werden, ob und zu welchen Zeitpunkten *post transplantationem* sich Nabelschnurblut-MSC's in ausgewählten Geweben mittels quantitativer Real-Time-PCR nachweisen lassen. Es konnte jedoch weder in Leber, Herz, Milz, Niere, Lunge, Gehirn noch im Knochenmark ein Nachweis humanen Materials geführt werden. Als Ursache des fehlenden *Engraftments* könnten eine zu geringe Bestrahlungsdosis oder eine zu geringe MSC-Transplantationsdosis in Betracht kommen. Alternativen zur genutzten intravenösen Transplantation stellt die direkte intraossäre Zellapplikation dar. Da auf diese Weise die genutzten Zellen direkt in das Knochenmark eingebracht werden, wird vermutlich eine geringere Ausgangszellzahl benötigt. Aktuelle Forschungen befassen sich mit der Untersuchung von mesenchymalen Stammzellen aus anderen Geweben, wie z.B. aus Fettgewebe. Vorteil ist hierbei ein 100%iger Isolationserfolg. In wie weit diese Zellen jedoch alle Charakteristika von *cord blood* MSC's aufweisen, ist nicht abschließend geklärt.