

Bastian Rouven Peter Jochum
Dr. med.

Differenzierungsverhalten AC133 positiver hämatopoetischer Progenitorzellen nach in vitro-2D- Kokultur mit den epithelialen Tumorzelllinien HaCaT A-5 und HaCaT A-5RT3 sowie in vivo Mischspheroidassay im Nacktmausmodell

Geboren am 5.9.1979 in Mainz

Staatsexamen am 30.4.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Möhler

Ziel dieser Arbeit war, den Einfluss von humanen Tumorzellen auf das Differenzierungsverhalten von AC133 positiven humanen hämatopoetischen Stammzellen (HSC) zu untersuchen. Im wesentlichen wurden hierfür 2 experimentelle Systeme verwendet:

1. Kokultur der HSC mit den zwei verwandten Keratinozytentumorzelllinien. Die HaCaT A-5 ist eine in vivo tumorbildende jedoch nicht metastasierende Variante, während die durch zusätzliche multiple Reimplantationen (s. oben) malignisierte Variante HaCaT A-5RT3 in vivo Metastasen bildet.
2. Das Differenzierungsverhalten der HSC in vivo nach subkutaner Injektion von HSC/HaCaT Zellspheroiden in Nacktmäuse.

Kokulturexperimente von HSC mit HaCaT A-5 oder HaCaT A-5RT3 zeigen, dass das Tumormikromilieu einen nachhaltigen Einfluss auf das Überleben und die Differenzierung der humanen Stammzellen hat. Vergleiche mit HSC ohne HaCaT zeigten zunächst, dass beide HaCaT gleichermaßen das Überleben der HSC unterstützen, da ohne HaCaT nach 7 Tagen in vitro Kultur keine Viabilität mehr nachweisbar war, während mit HaCaT die Viabilität zu den Untersuchungszeitpunkten nach 7 und 14 Tagen über 90% betrug. Die weitere Analyse zeigte, dass die HaCaT A-5RT3-Zellen am ehesten aufgrund ihrer Expression von GM-CSF sowie VEGF eine stärkere Differenzierung von HSC zu monozytären und endothelialen Zellen veranlasst.

Die Tumorentwicklung 21 Tage nach subkutaner Injektion von HSC/HaCaT-Mischspheroiden ergab zunächst eine signifikant verminderte Tumorentwicklung bei der

Verwendung von HSC/HaCaT im Vergleich zu HaCaT allein. Tumoren induziert mit HSC/HaCaT A-5RT3 zeigten ein höheres mittleres Tumolvolumen im Vergleich zu der weniger tumorigenen Variante HaCaT A-5. Histopathologische Analysen der Tumore der HSC/HaCaT A-5RT3 Gruppe verdeutlichten übereinstimmend mit den in-vitro Kokulturergebnissen eine Differenzierung in monozytäre Zellen sowie kapillarbildende humane Endothelzellen.

Die in dieser Arbeit gezeigten Ergebnisse veranschaulichen, dass das Differenzierungsverhalten von HSC von Tumormikromilieu nachhaltig beeinflusst werden kann. Insbesondere kann gezeigt werden, dass die monozytäre und endotheliale Differenzierung von HSC durch ein entsprechendes Tumormikromilieu verstärkt werden kann. Die monozytäre und endotheliale Differenzierung findet nicht nur in vitro sondern auch in vivo statt. Nachdem bekannt ist, dass zirkulierende HSC aus den Tumorkapillaren in das Tumorgewebe transmigrieren können, zeigt die vorliegende Arbeit, wie diese HSC dann in vivo ausdifferenzieren und damit zum Tumorprogress z.B. durch Differenzierung in kapillarbildende Endothelzellen beitragen. Die weitere Untersuchung dieser Interaktion zwischen HSC und Tumor können weiter zum Verständnis der Tumorigenese beitragen und möglicherweise Grundlage für diagnostische oder therapeutische Ansatzpunkte liefern.