

Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Kathrin Sonja Jeltsch
Dr. sc. hum.

USSC (*unrestricted somatic stem cells*) aus humanem Nabelschnurblut: Interaktion mit CD34⁺ Stammzellen, Expression von *Homing*-relevanten Genen, gentherapeutische Untersuchungen und Untersuchungen zum Ausschluss eines tumorigenen Potenzials

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum
Doktorvater: Prof. Dr. med. W.J. Zeller

Die Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen (HSC) ist eine therapeutische Option bei der Behandlung von Leukämien, Lymphomen und bestimmten Erbkrankheiten. In vielen Fällen ist die Transplantation von HSC jedoch mit Komplikationen wie *Engraftment*-Versagen oder Panzytopenie verbunden (Urbano-Ispizua A, 2007). Es hat sich sowohl im Tiermodell als auch bei Patienten herausgestellt, dass mesenchymale Stammzellen (MSC) auf Grund ihrer Zytokinproduktion eine wichtige Rolle bei der Unterstützung des HSC-*Engraftments* spielen (Bensidhoum M *et al.*, 2004; Koc ON *et al.*, 2000). Erst vor kurzem wurde eine neue multipotente Zellpopulation im Nabelschnurblut, namens *Unrestricted Somatic Stem Cells* (USSC) entdeckt, die das Potential besitzt sich entlang aller drei Keimblätter zu entwickeln und verschiedene Zytokine sezerniert (Kögler G *et al.*, 2004). Die Kokultivierung von HSC und USSC in *Feeder-Layer*-Experimenten führte zu einer deutlich stärkeren Expansion der HSC als ohne USSC oder mit MSC als *Feederzellen*, wodurch gezeigt werden konnte, dass USSC *in vitro* die Proliferation der HSC besser unterstützen als MSC (Kögler G *et al.*, 2005).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Effekt von USSC auf das *Homing* und *Engraftment* von kotransplantierten humanen HSC im NOD/SCID-Mausmodell untersucht. Nach 4 Wochen war dieses im Knochenmark von Mäusen, die mit USSC und HSC kotransplantiert worden waren, signifikant erhöht (30,9%) im Vergleich zur Kontrollgruppe, die HSC allein erhalten hatten (5,9%, $p=0.004$). Nach 8 Wochen lag der durchschnittliche Anteil an humanen Zellen im Knochenmark bei 24,2% und bei 11,3% in der Kontrollgruppe. Der Anteil an humanen HSC, der seine CD34-Expression aufrecht erhalten hatte, blieb durch die Kotransplantation von USSC unverändert. Im Einklang mit den Ergebnissen aus dem durchgeführten Migrationsassay und den niedrigen Expressionswerten von *Homing*-relevanten Genen, konnte für USSC keine Migration in Richtung Knochenmark nachgewiesen werden. Außer in der

Lunge „festhängend“, konnten USSC in keinen weiteren Organen detektiert werden. Ein Tumorigenitätstest in NMRI-nu/nu-Mäusen zeigte, dass USSC kein tumorigenes Potential besitzen, was ihren Einsatz in der regenerativen Medizin ermöglicht.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde mit Hilfe von LAM-PCR und Pyrosequenzierung das Integrationsmuster des lentiviralen SIN-Vektors (hier mit dem Transgen *MDR1*) untersucht und die erhaltenen Daten mit einem zufallsverteilten *In-silico*-Set verglichen. Dabei wurde gezeigt, dass HR-SIN in USSC bevorzugt in Gene integriert; Transkriptionsstartstellen sowie CpG-Inseln wurden als Integrationsort ausgespart. In LINE- und SINE-Sequenzen konnte keine signifikante Häufung der Integrationen des verwendeten SIN-Vektors nachgewiesen werden. Anhand der hier präsentierten Ergebnisse konnte das Risiko einer Insertionsmutagenese als eher gering eingestuft werden.