

Verena Dexheimer

Dr. sc. hum.

Eigenschaften humaner Mesenchymaler Stammzellen in Abhängigkeit vom Spenderalter und Bedeutung der Proliferation für die in vitro Differenzierung

Promotionsfach: Immunologie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. biol. hum. Wiltrud Richter

Mesenchymale Stammzellen sind aufgrund ihrer Selbsterneuerungsfähigkeit und ihres Multilineage Differenzierungspotentials eine interessante alternative Zellquelle zur Behandlung von Knorpel- und Knochendefekten. Da vor allem ältere Spender unter diesen Erkrankungen leiden und therapiebedürftig sind, sollte in dieser Arbeit anhand 6 verschiedener in vitro Parameter ein möglicher Zusammenhang zwischen MSC-Eigenschaften und dem Spenderalter aufgeklärt werden. Daneben sollte untersucht werden, ob und inwiefern die Entwicklungsstufen der in vitro Chondrogenese von MSC denen der embryonalen Knorpelentwicklung entsprechen, ein Wissen mit dem eine Verbesserung der in vitro Chondrogenese gelingen könnte. Zuletzt wurde die Differenzierung nativer, nicht-expandierter MSC analysiert mit der Fragestellung, ob MSC ihre Multipotenz erst durch Kultivierung erlangen oder diese bereits besitzen.

Diese Arbeit zeigte, dass die osteogene, adipogene und chondrogene Differenzierung von MSC nicht vom Spenderalter abhängig ist. Stattdessen wurde die Proliferationsgeschwindigkeit vor Differenzierungsbeginn als Parameter für den Differenzierungserfolg in alle drei Richtungen identifiziert. Durch Modifikation der Wachstumsgeschwindigkeit von spendergleichen MSC wurde das Ergebnis der chondrogenen Differenzierung beeinflusst, so dass eine Beschleunigung der Wachstumsgeschwindigkeit in einer verbesserten chondrogenen Differenzierung resultierte. Somit ist eine Behandlung mit autologen MSC auch bei älteren Patienten möglich, durch entsprechende Kulturbedingungen können auch schlechtere Ausgangspopulationen brauchbare Zellen liefern.

Zum ersten Mal überhaupt wurde eine bisher unbekannte transiente Proliferationsphase während der chondrogenen Differenzierung identifiziert. Diese fiel zeitlich mit dem Beginn der Matrixablagerung zusammen und war so essentiell, dass eine erfolgreiche Differenzierung nicht mehr möglich war, wenn die Zellen in ihrem Wachstum irreversibel arretiert wurden. Zum einen wurde somit der kausale Zusammenhang zwischen Proliferation und chondrogener Differenzierung bewiesen. Zum anderen wurde gezeigt, dass die MSC während der in vitro Chondrogenese ein Programm durchlaufen, das, bis

auf eine unnatürlich lange Apoptosephase zu Beginn, den Entwicklungsstufen während der embryonalen Knorpelentwicklung entspricht. Die in vitro Chondrogenese wurde somit als geeignetes Modell zur weiteren Untersuchung der Regulation von Wachstum und Differenzierung identifiziert.

Schließlich wurden erstmals MSC, sowohl aus Lipo- als auch Knochenmarkaspiraten, ohne vorherige Expansion erfolgreich osteogen, adipogen und chondrogen differenziert. Damit wurde gezeigt, dass die Zellen eine intrinsische Differenzierungsfähigkeit besitzen, die sie nicht erst durch Kultivierung erlangen. In Bezug auf die chondrogene Differenzierung waren native ATSC überraschenderweise expandierten ATSC deutlich überlegen, so dass über einen zukünftigen trägergestützten Einsatz nativer MSC für therapeutische Zwecke nachgedacht werden muss. Ein klinischer Einsatz nativer MSC im Knorpeldefekt würde die Nachteile expandierter MSC umgehen und eine direkte Behandlung im Operationssaal erlauben. Hierfür müssen jedoch zuerst in vivo Experimente am Großtiermodell durchgeführt werden, die die Tauglichkeit dieser Konstrukte im Organismus beweisen.