

Annette Dorothee Ludwig

Dr.med.

Einfluss der selektiven CXCR4 Inhibition auf die Proliferation und Differenzierung humaner hämatopoetischer und mesenchymaler Stammzellen

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Anthony D. Ho

Die CXCR4/SDF1 α Achse ist ein wichtiger Signalweg für die Mobilisierung hämatopoetischer Stammzellen (HSC) und den Aufbau der Stammzellnische im Knochenmark. Ziel dieser Arbeit war es den Einfluss dieser Interaktion auf den Selbsterhalt, die Proliferation und die Differenzierung von HSC in einem Stammzellnischenmodell zu analysieren. Mittels der CFSE Färbung konnte die Zellteilungskinetik von CD34⁺ Zellen aus Nabelschnurblut nach 6 Tagen Kultivierung in der Durchflusszytometrie ermittelt werden. Zugleich wurden an Tag 6 die Oberflächenmarker CD34, CD38 und der CXCR4-Rezeptor auf HSC bestimmt. Die Kultivierung von HSC fand auf drei verschiedenen Feeder-Layern mesenchymaler Stammzellen statt, die sich hinsichtlich ihres Expansionsmediums (M1-M3) unterschieden. Medium 1 und 2 war fetales Kälberserum (FCS) in den Konzentrationen 2% und 10% zugesetzt. Medium 3 enthielt 2% gepooltes humanes Plättchenlysat (pHPL), das GMP-Standards erfüllt und aus der Zusammenarbeit des Start-MS2 Verbundprojekts von der Stammzellbank in Mannheim erhalten wurde. Der CXCR4-Antagonist Plerixafor wurde zur Analyse der CXCR4/SDF1 α Inhibition in drei unterschiedlichen Konzentrationen den Kulturen zugegeben.

Es zeigte sich, dass MSC HSC zur Proliferation anregten und gleichzeitig die Expression der Oberflächenmarker CD34 länger erhalten blieb. Damit fördern MSC sowohl den Selbsterhalt und die Proliferation von HSC und sind somit entscheidende Regulatoren in der Stammzellnische. Ob dies über die CXCR4/SDF1 α Achse stattfindet, wurde durch die Analyse der Kulturen ermittelt, denen Plerixafor zugegeben wurde. Plerixafor verlangsamte hier die Proliferation von HSC, jedoch nur unter Kokulturbedingungen mit MSC. Somit antagonisierte die Unterbrechung der CXCR4/SDF1 α Achse den Effekt von MSC auf HSC. Eine weitere Erkenntnis war, dass sich dabei die Wirkung quantitativ je nach MSC Feeder-Layer unterschied.

Zusammenfassend kann nun gesagt werden, dass MSC auf HSC im Kokulturmodell eine proliferationssteigernde Wirkung haben. Es zeigte sich, dass die Inhibition der CXCR4/SDF1 α Achse durch Plerixafor zu einer Veränderung in der Proliferation und Differenzierung von hämatopoetischen Stammzellen führt, jedoch nur unter Kokulturbedingungen mit mesenchymalen Stammzellen. Der exakte Wirkmechanismus von Plerixafor ist dabei noch nicht bekannt und Gegenstand zukünftiger Forschungsarbeiten.