

Tao Zhang

Dr. med.

Funktionsanalyse der initialen asymmetrischen Zellteilungen primitiver hämatopoetischer Vorläuferzellen

Geboren am 11.08.1966 in Shanghai, V.R. China

Reifeprüfung am 09.07.1984 in Shishou, Hubei, V.R. China

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1984 bis SS 1989

Physikum am 25.04.1986 an der medizinischen Universität Tongji, Wuhan, V.R. China

Klinisches Studium in der medizinischen Universität Tongji, Wuhan, V.R. China

Praktisches Jahr in 1989

Staatexamen am 25.06.1989 an der medizinischen Universität Tongji, Wuhan, V.R. China

Promotionsfach: Medizin

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

ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit leistet einen Beitrag zum Verständnis der Zusammenhänge zwischen den initialen Zellteilungsvorgängen und dem funktionellen Potenzial von humanen hämatopoetischen Stammzellen (HSZ). Hierzu wurde erstmals auf Einzelzellebene die initiale Zellteilungsgeschichte durchflußzytometrisch sortierter individueller CD34+/CD38- Zellen aus dem humanen Nabelschnurblut dokumentiert und mit einem *in vitro* Assay korreliert, der primitive und den HSZ äquivalente Vorläuferzellen (ML-IC) beschreibt. In diesem Zusammenhang wurden auch liniendeterminierte koloniebildende Progenitoren (CFC) bestimmt. In diesem experimentellen Ansatz wurden zwei unterschiedliche Kulturbedingungen untersucht, die entweder sogenannte früh wirksame und auf Stammzellebene agierende Zytokine enthielten (FZ-Medium) oder proliferations- und differenzierungsinduzierend mit sogenannten spät wirksamen Zytokinen (SZ-Medium) wirkten.

Folgende Fragestellungen wurden untersucht:

1. Einfluss von verschiedenen *in vitro* Bedingungen auf die initialen Teilungsvorgänge von HSZ.
2. Korrelation der initialen Zellteilung mit funktionellen Eigenschaften
3. Rolle der asymmetrischen Zellteilung im Selbsterneuerungs- und Differenzierungsprozess der HSZ

Trotz einer signifikant höheren numerischen Gesamtproliferation in SZ-Bedingungen blieben ca. 10% der CD34+/CD38- Zellen nur unter diesen Bedingungen über mindestens 10 Tage in Teilungsrufe und reagierten nicht auf den proliferativen Stimulus der spät wirksamen Zytokine. Die Anzahl der asymmetrisch geteilten Zellen war aber in beiden Kulturbedingungen trotz unterschiedlicher Einzelzellteilung gleich und lag um die 20%, was bedeutet, daß asymmetrische Teilungen in erster Linie intrinsisch determiniert sind und durch externe Faktoren nicht beeinflusst werden können.

In beiden Zytokinmilieus konnten die stammzelläquivalenten ML-IC im Vergleich zur Ausgangspopulation erhalten werden, wobei sich die ML-IC unter FZ-Bedingungen in der Mehrzahl geteilt hatten. Unter SZ-Bedingungen dagegen blieben die ML-IC überwiegend in Teilungsrufe und konnten von den differenzierungsinduzierenden Zytokinen nicht stimuliert werden. Die bereits determinierten CFC rekrutierten sich in erster Linie aus Zellen, die sich in den Primärkulturen schnell und mehrfach teilten. Die Analyse der initialen Teilungssymmetrie demonstrierte, daß ML-IC, wenn sie sich teilen, im Gegensatz zu den CFC in erster Linie asymmetrisch geteilte Tochterzellen hervorbringen und vor Zellzykluseintritt eine mindestens 4 tägige Phase der Teilungsrufe durchlaufen.

Damit wird deutlich, daß die initial isolierten CD34+/CD38- Vorläuferzellen immer nur eine der beiden Eigenschaften besitzen, entweder primitive ML-IC- oder determinierte CFC-Kapazität. Es bestätigt sich auch, daß bestimmte funktionelle Eigenschaften, wie zum Beispiel die Fähigkeit zur Koloniebildung, nicht ohne weiteres auf Stammzellen übertragbar sind.

Im Ergebnis der hier vorgelegten Arbeit können erstmals anhand der initialen Zellteilungsvorgänge Stammzellkandidaten prospektiv nach wenigen Tagen erkannt und für weitere therapeutische Anwendung.