

Claudia Rimmele
Dr. med.

Unterschiede zwischen mesenchymalen Stromazellen aus Synovialgewebe und Knochenmark von Arthrosepatienten unter besonderer Berücksichtigung des Phänotyps und der Immunmodulation von CD4⁺-T-Zellen

Fach/Einrichtung: Orthopädie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Felix Zeifang

Die Arthrose hat als eine der häufigsten muskuloskelettalen Erkrankungen große medizinische und sozioökonomische Bedeutung. Die Therapiemöglichkeiten sind jedoch auf Maßnahmen, die zu vorübergehender Besserung führen und den totalen Gelenkersatz im Endstadium der Erkrankung, begrenzt. Alternative Behandlungsmethoden liegen in knorpelregenerativen Verfahren, wofür aufgrund ihres chondrogenen Differenzierungspotentials Mesenchymalen Stromazellen untersucht werden. Studien zeigen, dass bei der Arthrose auch Entzündungsprozesse eine bedeutende Rolle spielen, welche bisher für Therapieansätze weitgehend unberücksichtigt bleiben. Hier könnte ein möglicher Ansatzpunkt für eine kausale Therapie liegen, die in frühen Krankheitsstadien ansetzen und die Kaskade der Gelenkzerstörung aufhalten könnte. Es wurde gezeigt, dass Mesenchymalen Stromazellen neben den oben genannten regenerativen auch immunmodulatorische Eigenschaften auf Lymphozyten im Allgemeinen und Treg im Besonderen ausüben. Bei immunvermittelten Erkrankungen spielen Treg durch ihre Bedeutung im Erhalt der peripheren Toleranz eine zentrale Rolle. Die Mechanismen der Interaktion von Mesenchymalen Stromazellen und Lymphozyten bei der Arthrose sind weitestgehend unerforscht, obwohl Mesenchymalen Stromazellen eine wichtige Rolle in der Modulierung dieser Entzündungsprozesse spielen könnten. Ziel dieser Studie war es daher, systematisch Mesenchymalen Stromazellen aus der Synovialmembran und dem Knochenmark von Arthrosepatienten hinsichtlich ihrer phänotypischen und ihrer Differenzierungseigenschaften sowie ihres immunmodulatorischen Potentials zu vergleichen. Mesenchymalen Stromazellen aus der während der Versorgung von Coxarthrosepatienten mit Hüfttotalendoprothesen gewonnenen Synovialmembran und Knochenmark wurden bis zum Ende von Passage 2 kultiviert und mit CD4⁺-Lymphozyten aus dem Blut gesunder Spender kokultiviert. Durchflusszytometrisch wurde das Expressionsverhalten von Oberflächenmarkern vor und nach Kokultur (10 Spender), mittels Carboxyfluorescein succinimidyl ester Färbung das Proliferationsverhalten CD3/CD28 stimulierter CD4⁺-Lymphozyten (5 Spender) und mittels Cytometric Bead Array -Untersuchung das Sekretionsverhalten von Zytokinen betrachtet. Alle Versuche wurden als Dreifachansätze durchgeführt. Einzelkulturen und nicht stimulierte Kulturen dienten als Kontrollen. Für die Synovialmembran wurde in der Durchflusszytometrie der Grad der Entzündung bestimmt. Beide Populationen von Mesenchymalen Stromazellen zeigten Plastikadhärenz und ein normales trilineares Differenzierungspotential. Mesenchymalen Stromazellen aus der Synovialmembran zeigten als homogenere Population eine höhere Expression von CD90, eine auf eine geringere Immunogenität hindeutende verminderte Expression von HLA-DR sowie eine mit einem verminderten Differenzierungspotential assoziierte geringere Expression von CD146. Die CD4⁺-Lymphozyten stabilisierten die Populationen von Mesenchymalen Stromazellen. Sie verstärkten die unter den Kulturbedingungen des Kokulturansatzes auftretende Abnahme von CD146 und Zunahme von HLA-DR, indem sie in deren reziproken Regulationsmechanismus einzugreifen scheinen. Beide Populationen von Mesenchymalen Stromazellen verschoben

CD4⁺-Lymphozyten von einem CD45RO⁺- hin zu einem CD45RA⁺-Phänotyp und verhindern die in in-vitro Einzelkulturen auftretende Abnahme von CD4⁺/CD25^{high+}-Treg, indem sie CD45RO⁺ regulatorische T-Zellen stabilisieren, ohne die Zahl der CD45RA⁺ regulatorischen T-Zellen zu verändern. Zusätzlich rekrutieren sie wie Mesenchymale Stromazellen gesunder Patienten CD4⁺/CD25^{high+}/Foxp3⁺ aus einer Gruppe von CD4⁺-Lymphozyten. Damit lösten beide Gruppen von Mesenchymalen Stromazellen eine indirekte Immunsuppression aus und könnten damit das Verhältnis der CD45RO⁺- und CD45RA⁺/CD4⁺-Lymphozyten im inflammatorischen Milieu der Arthrose umkehren und die Expression von Foxp3 stabilisieren. Diese Beobachtungen waren mit einer Erhöhung von IL-2 bei Mesenchymalen Stromazellen aus Synovialmembran und IL-6 bei Mesenchymalen Stromazellen aus Knochenmark verbunden. Im unstimulierten Proliferationsansatz kam es trotz der Expression von HLA-ABC und HLA-DR auf den Mesenchymalen Stromazellen zu keiner Steigerung der Proliferation, was ein wichtiger Aspekt für den Einsatz allogener Mesenchymaler Stromazellen in zellbasierten Therapien ist. Nur Mesenchymalen Stromazellen aus Synovialmembran konnten die Proliferation von CD3/28 stimulierten CD4⁺-Lymphozyten hemmen und damit auch eine direkte Immunmodulation bewirken. Bei beiden Populationen von Mesenchymalen Stromazellen kam es zur Abnahme von IL-2 und TNFα und Zunahme von IL-6, wobei bei Mesenchymalen Stromazellen aus Knochenmark die Erhöhung von IL-6 stärker ausgeprägt war und zusätzlich IL-10 und TGFβ erhöht waren, was die Hemmung der Proliferation verhindert haben könnte. KM- und SM-MSC können somit ähnliche immunmodulatorische Eigenschaften auf unterschiedliche Art und Weise ausüben und gleichzeitig können sie trotz ähnlicher Zytokinsekretion eine andere Wirkung haben. Mesenchymale Stromazellen aus Synovialmembran von Arthrosepatienten weisen also phänotypische und funktionelle Ähnlichkeiten mit den Mesenchymalen Stromazellen aus Knochenmark auf, unterscheiden sich jedoch in einigen Aspekten und stellen damit eine eigene Population dar, möglicherweise bedingt durch epigenetische Phänomene entsprechend dem Einfluss der Pathophysiologie der Arthrose. Hier konnte eine unterschiedlich starke Entzündung im Gelenk mit variierender zellulärer Zusammensetzung der mononukleären Infiltration beobachtet werden. Dies könnten auch Konsequenzen für die Effektivität der therapeutischen Anwendung haben. Die Mesenchymalen Stromazellen von Arthrosepatienten hielten also wesentliche immunregulatorische Eigenschaften aufrecht, weshalb die Arthrose keinen limitierenden Faktor für die Anwendung von Mesenchymalen Stromazellen darstellt. Die immunregulatorischen Eigenschaften konnten trotz der in vitro Expansion und zwischenzeitlichen Tiefgefrieren festgestellt und bei Mesenchymalen Stromazellen aus Synovialmembran regelmäßig, trotz unterschiedlich stark ausgeprägter Entzündung im Gelenk, nachgewiesen werden. Dies kann relevant sein für die klinische Anwendung in zellbasierten Therapien und macht Mesenchymale Stromazellen aus Knochenmark und insbesondere Synovialmembran zu einem vielversprechenden Ziel für zukünftige zellbasierte Therapien zur Modulierung der Entzündungsreaktionen in Gelenken von Arthrosepatienten. Jedoch werden weitere Versuche notwendig sein, um ein noch besseres Verständnis über die Vorgänge der Zellinteraktion bei Arthrosepatienten, die Anwendung in therapeutischen Strategien und die Übertragbarkeit auf die Komplexität eines entzündeten Gelenks zu erhalten.