

Simone Scholtes

Dr. sc. hum

Die molekulare Antwort von humanen artikulären Chondrozyten auf mechanische Kompression

Fach/Einrichtung: Orthopädie

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

Im TE bietet die dynamische Kompression Zell-besiedelter Trägermatrices großes Potential zur *in vitro* Herstellung von Knorpelreparaturgewebe. Mechanosensitive Moleküle, die *in vitro* die Reifung zu artikulärem Knorpel begünstigen, und ihr Zusammenspiel sind für Chondrozyten noch kaum erschlossen und zielführende Faktoren zum Knorpelaufbau daher weitgehend unbekannt. Ziel dieser Studie war somit, Transkriptom-weit mechanosensitive Gene und Signalwege aufzudecken und vielversprechende Ansatzpunkte für den Knorpelaufbau zu identifizieren.

Chondrozyten-besiedelte osteochondrale TE Konstrukte wurden nach 35-tägiger Reifung unter chondrogenen Bedingungen in gepulster Abfolge über 3 Stunden dynamisch komprimiert. Mittels Microarray-Analyse wurde die Expression von ca. 31000 Genen zwischen belasteten Konstrukten und solchen, die ohne Belastung kultiviert wurden, verglichen (n=6 aus 3 unabhängigen Versuchen). Der Vergleich brachte 115 differentiell exprimierte Gene hervor. Darunter waren alle bis auf ein Gen in belasteten Zellen stärker exprimiert als in unbelasteten und n=48 Gene waren mit über 2,00-facher Expressionsdifferenz vertreten. Bekannte anabole Faktoren umfassten den chondrogenen Masterregulator SOX9, Gene zur GAG-Synthese (CHSY1, GALNT4) und Vertreter des BMP-Signalwegs (BMP2, BMP6). Besonders viele Modulatoren des MAPK-Signalwegs zeigten eine erhöhte mRNA-Expression nach Belastung. Zudem fanden sich interessante Gene assoziiert mit den Retinsäure- (NR4A2, GPRC5A), Jak-Stat- (CLCF1), ErbB- (HBEGF), Wnt- (AXUD1), Calcium- (NFATC1) und Notch- (JAG1) Signalwegen mechanisch aktiviert. Der Anstieg von Sox9 Protein und die Stimulation der Kinase ERK1/2 konnte auf Proteinebene verifiziert werden.

Die kinetische mRNA-Analyse 8 ausgewählter Faktoren zeigte, dass mRNA-Spiegel von BMP6 und DUSP5 nach Belastungsende mindestens 8 Stunden induziert blieben, während mRNA-Spiegel von BMP2 und untersuchten Transkriptionsfaktoren früher und meist nach 2-4 Stunden wieder auf Ausgangsniveau waren. Die mRNA-Antwort ließ sich gleichartig durch wiederholte Belastung im Tagesrhythmus re-induzieren und zwar für SOX9, BMP2 und

BMP6 auch am 14. Stimulationstag noch. Eine Verbesserung der Matrixablagerung der Konstrukte gelang aber durch diese Langzeitstimulation nicht, da vermutlich GAG-Verluste durch Kompression die Neusyntheserate überwogen.

Insgesamt stellt diese Arbeit erstmals für humane Chondrozyten eine umfassende Datenbasis mechanosensitiver Gene zur Verfügung, die die molekulare und kinetische Antwort auf eine anabol-stimulierende Belastung beschreibt. Sie stellt erstmals heraus, dass SOX9 mRNA- und Proteinspiegel durch Kompression hochreguliert werden und die SOX9 Genantwort über Wochen sensitiv für gepulste Kompressionsreize bleibt. Die SOX9 Regulation zusammen mit der Regulation von BMPs und der erstmals beschriebenen Regulation von Genen zum Chondroitinsulfat-Aufbau erweitern hiermit das Potential von Kompressionskräften zum Einsatz in der Knorpelgewebe-Züchtung. Die Studie impliziert, dass mehr Signalwege als bislang angenommen bei Chondrozyten mechanisch reguliert sein könnten, was nun stückweise aufgeklärt werden kann. SOX9 ist der zentrale Faktor, der dringend hinsichtlich seiner mechanosensitiven Bedeutung und Interaktion weiter untersucht werden sollte, um sein Potential zur *in vitro* Herstellung von Knorpelersatzgewebe zukünftig besser ausschöpfen zu können.