

Akos Zsolt Szabo
Dr. med.

The CD44⁺ALDH⁺ Population of Human Keratinocytes Is Enriched for Epidermal Stem Cells with Long-Term Repopulating Ability

Fach/Einrichtung: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum) / Frauenheilkunde

Doktormutter: Prof. Dr. Barbara Burwinkel

Die Isolierung einer reinen Population von epidermalen Stammzellen (EpiSC) ist von höchster Bedeutung für die erfolgreiche Anwendung in der regenerativen Medizin.

In dieser Studie wurde Epidermis von humanen CD44⁺ALDH⁺ und Integrin α 6^{hi}CD71^{lo} (IT α 6^{hi}CD71^{lo}) tragenden Keratinozyten nach subkutaner Injektion in NOD/SCID Mäuse generiert.

Nach Injektion erlangten die Zellen eine normale ultrastrukturelle Erscheinung, inklusive Keratohyalingranula, Lamellenkörperchen sowie entkernte Hornzellen. Zusätzlich exprimierten sie wulstartiges pemphigoides Antigen und Laminin auf der Epithel-Stroma Oberfläche. Darüber hinaus zeigte sich eine normale Expression von Keratin 14, Involukrin, Fillagrin, und Laminin.

Der hier vorgestellte Assay, stellt eine quantitative Analyse der Fähigkeit von vermutlichen Stammzellmarkern dar und langfristig repopulationsfähige Zellen der Epidermis anzureichern. Diese Arbeit zeigt eine 12.6-fache Anreicherung an EpiSCs in der CD44⁺ALDH⁺ Population und eine 5.6-fache Anreicherung in der IT α 6^{hi}CD71^{lo} Population.

Während die CD44⁺ALDH⁺ Population sich auf 1:170 epidermale Stammzellen anreichert, bleibt dennoch das finale Ziel eine annähernd reine Population von EpiSCs zu erhalten.

Zur genauen Untersuchung, ob die CD44⁺ALDH⁺ und IT α 6^{hi}CD71^{lo} Keratinozytenpopulationen dieselben Populationen waren, wurde eine FACS-Analyse durchgeführt. Hierbei wurde festgestellt, dass nur 1,1% - 2,3% der IT α 6^{hi}CD71^{lo} Keratinozyten ALDH⁺ waren, während es keine Überschneidung mit den CD44⁺ALDH⁺ Keratinozyten gab. Dies ist in Kombination mit die in vitro-Ergebnisse, bei denen CD44⁺ALDH⁺ aber nicht IT α 6^{hi}CD71^{lo} Keratinozyten konnten in embryonalen Stammzellmedium wachsen, äußerst aufschlussreich. Damit lassen sowohl die

FACS-Analyse als auch das Wachstum in embryonalen Stammzellmedium vermuten, dass es sich hierbei um zwei verschiedene Populationen von Progenitorzellen handelt. Am ehesten $CD44^+ALDH^+$ Stammzellen und $IT\alpha6^{hi}CD71^{lo}$ Transit Amplifying Zellen (TACs).

Die $CD44^+ALDH^+$ Zellen zeigten deutlich höhere Multipotenz verglichen mit $CD44^-ALDH^-$ Zellen. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass in der $CD44^-ALDH^-$ Population es Gruppen von pluripotente Zellen gibt (z.B. $IT\alpha6^{hi}CD71^{lo}$), die sich von $CD44^+ALDH^+$ Zellen unterscheiden, aber trotzdem Haut und Haarproduktion initiieren können.

Während die Eigenschaften der $IT\alpha6^{hi}CD71^{lo}$ Keratinozytenpopulation bereits gut dokumentiert sind, wurde hier die einzigartigen Stammzeleigenschaften der $CD44^+ALDH^+$ Keratinozyten dargestellt.

In zukünftigen Studien sollte daher systematisch das Potential einzelner möglicher Stammzellenmarker langfristig repopulationsfähige Zellen evaluiert werden, mit dem Ziel, eine reine Population von EpiSCs durch die Kombination von verschiedenen Markern zu erhalten. Verschiedene Progenitorpopulationen könnten dann mit spezifischen Phänotypen und dem Wachstumsverhalten in-vitro korreliert werden.

Weitere Methoden wie Epigenetik und induzierte pluripotente Stamzellen könnten den Schlüssel für zukünftige Fortschritte in der regenerativen Medizin darstellen.