

Franziska Münz

Dr. med.

## **Auswirkungen verschiedener Chemotherapeutika auf die charakteristischen Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen**

Einrichtung: DKFZ

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Peter Huber

Chemotherapien sind Standard in der Therapie vieler Tumorerkrankungen. Sie zerstören jedoch nicht nur Tumorzellen, sondern beschädigen auch gesunde Zellen mit der Folge, dass manche Organe in ihrer Funktion eingeschränkt sind oder diese sogar verlieren. Manche dieser Nebenwirkungen sind irreversibel. Da es bisher für chemotherapieinduzierte Schäden keine kurative Therapiemöglichkeit gibt, müssen die Patienten mit diesen Einschränkungen leben.

Während es viele Daten gibt, mesenchymale Stammzellen bei ischämischen oder mechanischen Organschäden zur Regeneration einzusetzen, ist das regenerative Potential von MSCs bei Organschäden durch Chemotherapie bisher weitestgehend unbekannt.

Dennoch gelten MSCs als Hoffnungsträger zur Regeneration chemotherapieinduzierter Organschäden. Bevor MSCs jedoch therapeutisch zur Regeneration von Organschäden, die durch Chemotherapeutika hervorgerufen wurden, eingesetzt werden können, ist es wichtig, die Auswirkungen dieser Chemotherapeutika auf die mesenchymalen Stammzellen selbst zu kennen.

Des Weiteren tritt bei vielen Patienten als unerwünschte Wirkung eine Knochenmarksdepression auf, auch bei den Chemotherapeutika Paclitaxel, 5-Fluorouracil und Gemcitabin können die Patienten darunter leiden. Da MSCs eine wesentliche Rolle im Mikromilieu des Knochenmarks einnehmen, muss geklärt werden, ob ihre Funktion durch Chemotherapeutika eingeschränkt wird und es deshalb zu einem Funktionsverlust des Knochenmarks kommt.

In dieser Arbeit wurden die Auswirkungen der Chemotherapeutika Paclitaxel (Taxan), 5-Fluorouracil (Antimetabolit) und Gemcitabin (Antimetabolit) auf die charakteristischen Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen herausgearbeitet. Die Versuche erfolgten an aus dem Knochenmark gewonnener mesenchymaler Stammzellen von drei verschiedenen gesunden Spendern, den Fibroblasten HS68 und MRC-5 und der humanen Tumorzelllinie A549. Als Endpunkte dienten die Zellmorphologie, klonogenes Überleben und metabolische Aktivität, die Fähigkeit zur Adhäsion und Migration, die adipogene, osteogene und chondrogene Differenzierungsfähigkeit, die Expression charakteristischer Oberflächenmarker, die Zellzyklusverteilung und die Apoptoserate.

Paclitaxel schränkte die charakteristischen Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen dosisabhängig ein. Eine Behandlung mit Paclitaxel führte bei MSCs zu einer Abnahme des klonogenen Überlebens, die Viabilität blieb jedoch auch bei hohen Konzentrationen noch

erhalten. Ihre Fähigkeit zur Adhäsion blieb auch nach Behandlung mit Paclitaxel vorhanden, die Migrationsgeschwindigkeit nahm jedoch dosisabhängig deutlich ab. Auch die Differenzierungsfähigkeit zu Adipozyten, Osteozyten und Chondrozyten nahm dosisabhängig signifikant ab. Allerdings behielten die MSCs ihre Zellmorphologie und die Expression der charakteristischen Oberflächenmarker CD73, CD90 und CD105. Eine Inkubation mit Paclitaxel führte in der Zellzyklusverteilung zu einer verlängerten G2-Phase. Es kam jedoch durch Paclitaxel zu keinem Anstieg des Zellanteils in Apoptose.

Die Antimetaboliten 5-Fluorouracil und Gemcitabin hatten keinen Einfluss auf die charakteristischen Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen. Sowohl nach Behandlung mit 5-FU als auch nach Behandlung mit Gemcitabin wiesen MSCs eine höhere Viabilität auf als die Fibroblasten HS68, im klonogenen Überleben gab es keinen Unterschied zu den Fibroblasten. Durch keines der beiden Chemotherapeutika wurde die Fähigkeit mesenchymaler Stammzellen zur Adhäsion oder Migration eingeschränkt. Auch die Fähigkeit zur adipogenen und osteogenen Differenzierung nahm nach einer Behandlung mit den Antimetaboliten 5-FU und Gemcitabin nicht ab. Weder durch 5-FU noch durch Gemcitabin wurde die Zellmorphologie oder die Expression der charakteristischen Stammzeleigenschaften verändert. Während es durch 5-FU zwar zu Verschiebungen in der Zellzyklusverteilung kam ohne klare Akkumulation in einer Phase, nahm nach einer Behandlung der MSCs mit Gemcitabin der Anteil an Zellen in der S-Phase signifikant zu. Beide Antimetaboliten erhöhten die Apoptoserate mesenchymaler Stammzellen nicht.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse, dass durch das Taxan Paclitaxel die charakteristischen Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen dosisabhängig eingeschränkt wurden, während nach einer Behandlung mit den Antimetaboliten 5-Fluorouracil und Gemcitabin mesenchymale Stammzellen ihre charakteristischen Stammzeleigenschaften behielten. Die in dieser Arbeit beobachtete Sensibilität mesenchymaler Stammzellen gegenüber Paclitaxel ist möglicherweise für die bei Patienten beobachtete Knochenmarksdepression nach einer Behandlung mit dem Chemotherapeutikum Paclitaxel mitverantwortlich, da MSCs wesentlich an der Homöostase im Knochenmark beteiligt sind. Da eine Knochenmarksdepression auch bei Patienten nach Behandlung mit den Antimetaboliten 5-FU und Gemcitabin auftritt, mesenchymale Stammzellen sich in diesen Versuchen jedoch resistent gegenüber diesen beiden Chemotherapeutika gezeigt hatten, lässt sich die beobachtete Knochenmarksdepression auf der Grundlage dieser Ergebnisse nicht erklären.

In dieser Arbeit konnten die Auswirkungen der Chemotherapeutika Paclitaxel, 5-Fluorouracil und Gemcitabin auf mesenchymale Stammzellen selbst, die aus dem Knochenmark gewonnen wurden, aufgezeigt werden, die als Grundlage für weitere Versuche mit Chemotherapeutika an mesenchymalen Stammzellen dienen können.