

Janine Lückgen

Dr. sc. hum.

Biologische Mechanokompetenz von humanem Knorpelersatzgewebe: die Rolle von Zellherkunft und Signalkaskaden

Fach/Einrichtung: Orthopädie

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

Da Knorpelgewebe eine limitierte intrinsische Regenerationskapazität hat, sind operative Interventionen zur Therapie von Knorpelschäden oftmals unerlässlich. Aktuelle Therapieoptionen bieten jedoch häufig keine langfristig zufriedenstellenden Ergebnisse, so dass der Einsatz von Gelenkprothesen meist unvermeidbar ist. Diese bieten, anders als vitales Gewebe, jedoch keine Anpassungsmöglichkeiten an ihre mechanische Umgebung. Einen vielversprechenden Ansatz zur Herstellung von vitalem Knorpelersatzgewebe stellt das Tissue Engineering dar. Allerdings muss sichergestellt werden, dass das *in vitro* gezüchtete Knorpelersatzgewebe auch eine knorpeltypische Mechanokompetenz erwirbt, um die Homöostase des Gewebes gewährleisten zu können. Das bedeutet, dass die Aspekte der Mechanokopplung im Gewebe, der Mechanotransduktion der Reize ins Zellinnere und ihre Übersetzung in intrazelluläre Signale, sowie der Mechanoadaptierung denen von nativem Knorpelgewebe entsprechen sollten. Ob mesenchymale Stromazellen (MSC), die aufgrund ihrer leichten Isolierbarkeit, hohen Proliferationskapazität und chondrogenen Differenzierbarkeit eine vielversprechende Zellquelle für die Züchtung von Knorpelersatzgewebe darstellen, die gleiche Mechanokompetenz entwickeln wie artikuläre Chondrozyten (AC), war nicht bekannt. Daher verfolgte diese Arbeit das Ziel, die Mechanokompetenz von AC- und MSC-basiertem Knorpelersatzgewebe zu vergleichen. In dieser Studie konnte qualitativ hochwertiges AC- und MSC-basiertes Knorpelersatzgewebe mit vergleichbaren Mechanokopplungsparametern, basierend auf einem vergleichbaren Glykosaminoglykan (GAG)-Gehalt und gleicher Härte, die der von nativem Knorpel nahekam, hergestellt werden. Dies erlaubte eine vergleichende Untersuchung der Rolle der Zellherkunft für die Mechanotransduktion und Mechanoadaptierung in Knorpelersatzgewebe. AC und MSC-basierte Chondrozyten reagierten auf eine dreistündige, für AC zuvor als physiologisch bewertete zyklische Kompressionsepisode, die dreistündiges Gehen in 10-min Intervallen imitierte, mit einer gleichartigen Stimulation der Mechanotransduktionsparameter pERK1/2, der Expression mechanosensitiver Gene, mit Ausnahme von SOX9, und von microRNAs. Dabei konnte erstmals eine Mechanoinduktion gängiger mechanosensitiver Gene auch für humanes MSC-basiertes Knorpelersatzgewebe gezeigt werden. Ferner wurde erstmals eine Mechanostimulation ausgewählter microRNAs in MSC-basierten Chondrozyten belegt. Zum ersten Mal wurden die GAG- und Kollagensynthese in MSC-basierten Chondrozyten nach zyklischer Kompression bestimmt und ein Vergleich zu AC zeigte, dass MSC-basierte Chondrozyten empfindlicher auf das gewählte physiologische Belastungsprotokoll reagierten. Somit ergaben sich für MSC-basierte Chondrozyten bei ähnlicher Mechanotransduktion maßgebliche Defizite in der Mechanoadaptierung. Um die Ursachen für die differenzielle Mechanoadaptierung zu identifizieren, wurde die Rolle von Signalkaskaden mit anaboler, kataboler und nicht eindeutig zugeordneter Wirkung untersucht. Der anabole BMP-Signalweg war kein limitierender Faktor für die

Matrixsyntheseleistung der Zellen. Erstmals wurden eine Mechanoinduktion von PGE_2 für humanes MSC-basiertes Knorpelersatzgewebe sowie eine signifikant höhere PGE_2 -Freisetzung aus MSC- vs. AC-basiertem Knorpelersatzgewebe unter gleichen Kulturbedingungen belegt. Eine für MSC-basierte Chondrozyten bereits bekannte Freisetzung von NO nach zyklischer Kompression wurde in dieser Studie erstmalig auch für humane AC nachgewiesen. Nachweislich katabole Einflüsse von $\text{NF}\kappa\text{B}$ trugen zur gestörten Matrixsynthese in MSC-basierten Chondrozyten nach Belastung bei. Erstmals wurde auch eine *PTHLLH*-Stimulation in AC und MSC-basierten Chondrozyten nach dynamischer Kompression belegt. Katabole Einflüsse des PTHrP/cAMP/PKA-Signalwegs deuteten einen Beitrag zur reduzierten Matrixsynthese nach Belastung sowie zur Mechanoinduktion einzelner mechanosensitiver Gene an. Die Belastung stoppte die Differenzierung MSC-basierter Chondrozyten und reduzierte begleitend dazu die Hypertrophie. So hatte die Belastung zwar keinen spezifischen anti-hypertrophen Effekt, eine spezifische *PTHLLH*-Stimulation legte allerdings, gemeinsam mit einer Reduktion der Matrixsynthese durch PTHrP(1-34), nahe, dass der anti-chondrogene Effekt der Belastung auch einen Beitrag aus dem PTHrP-Signalweg enthalten könnte.

Diese Studie liefert damit neben der Erweiterung von aus AC bekannten Mechanoadaptierungsparametern um vier Signalkaskaden mit kataboler oder variabler Wirkung auf den Zellmetabolismus ($\text{NF}\kappa\text{B}$, NO, PGE_2 und PTHrP) einen bedeutenden Beitrag zur Charakterisierung der Mechanokompetenz von AC- und MSC-basiertem Knorpelersatzgewebe. Durch Inhibition kataboler Einflüsse von $\text{NF}\kappa\text{B}$ und dem PTHrP/cAMP/PKA-Signalweg wurden wichtige Stell-schrauben für die Installation einer Mechanoresistenz von MSC-basierten Chondrozyten hin zu Verhältnissen wie in nativen AC erkannt. Diese Erkenntnisse können nun dazu beitragen, funktionelle Tissue Engineering Ansätze zu verbessern und erweiterte pharmakologische Behandlungsoptionen nach zellbasierten Knorpeltherapieverfahren zu erwägen. Für zukünftige Studien gilt es, den Einfluss der Matrixzusammensetzung auf die Mechanokompetenz von Knorpelersatzgewebe zu untersuchen und die molekularen Ursachen der variableren SOX9-Regulation durch Belastung in MSC-basierten Chondrozyten zu entschlüsseln.