

## **Zusammenfassung**

Dai Ping

Dr. med.

### **Radiobiological investigations on mesenchymal stem cells (MSCs) after high-linear energy transfer (LET) particle radiation**

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

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

Mesenchymale Stammzellen (MSC) sind multifunktionale Stammzellen aus dem Mesoderm, die in verschiedenen Organen und Geweben des menschlichen Körpers weit verbreitet sind. Ihre vielfältigen Fähigkeiten zur Differenzierung, Regeneration und Zytokinsekretion haben therapeutisches Potenzial für die Reparatur von Gewebe- oder Organschäden inklusive Strahlenschäden. Ionisierende Strahlung besteht aus geladenen Teilchen (z.B. Elektronen, Protonen, schwere Ionen) und ungeladenen Photonen. Sie umfasst natürliche (kosmische Bestrahlung) und künstliche Strahlung (Medizintechnik). Natürliche und künstliche Strahlung wie Protonen und schwere Ionen können u.a. Knochenmarkstoxizität und Induktion von Tumoren zur Folge haben. Partikelstrahlen können dabei auch andere Normalgewebsreaktionen auslösen als Photonen. Mesenchymale Stammzellen haben prinzipiell das Potential strahlenbedingte Gewebetoxizität zu reduzieren.

Während die biologischen Auswirkungen von Photonenstrahlung auf mesenchymale Stammzellen bereits aktiv beforscht werden, ist nur wenig über die Radiobiologie nach Teilchenstrahlen dieser pluripotenten Zellen bekannt. Die hier vorliegende in vitro-Studie sollte diese Wissenslücke schließen helfen. Aus menschlichem Knochenmark stammende MSC wurden mit verschiedenen Teilchen bestrahlt, darunter Protonen, Helium-, Kohlenstoff- und Sauerstoff-Ionen, und zum Vergleich mit Photonen. Als Kontrollen wurden normale menschliche Fibroblasten (HS68) verwendet. Es wurden klonogene Assays durchgeführt und die relative biologische Wirksamkeit (RBW; klonogenes Überleben bei 10% Überleben) gegenüber Photonen berechnet. Die Veränderungen des Phänotyps von MSC nach verschiedenen Strahlungsarten und das Differenzierungspotenzial entlang der adipogenen, osteogenen und chondrogenen

Richtung wurden quantifiziert. Mit Hilfe der Durchflusszytometrie wurden die Expressionsniveaus charakteristischer Oberflächenmarker von MSC bestimmt und die Veränderungen des Zellzyklus und die Apoptoseraten (Caspase 3) im Vergleich zu normalen Fibroblasten analysiert. Die DNA-Schadensreaktion und Reparaturwege wurden auf Proteinebene durch Western Blotting analysiert. DNA-Doppelstrangbruch-Reparaturfoci (DSB) wurden mittels FACS und Immunfluoreszenzfärbung von  $\gamma$ H2AX untersucht.

MSC zeigten im Vergleich zu differenzierten Fibroblasten eine nur leicht erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Partikelstrahlung. Die RBW-Werte der MSC betragen 1,0-1,1 für Protonen, 1,7-2,3 für Helium-Ionen, 2,9-3,4 für Kohlenstoff-Ionen und 2,6-3,3 für Sauerstoff-Ionen. Die Partikelbestrahlung veränderte das charakteristische Oberflächenmarker-Muster und die Morphologie der MSC nicht, und die MSC behielten ihre Fähigkeit zur Differenzierung in allen Entwicklungslinien bei. Es gab keine konsistenten Unterschiede in den Auswirkungen auf den Zellzyklus nach Partikelbestrahlung im Vergleich zu Photonenbestrahlung. Die Apoptoseraten waren bei allen Bestrahlungsmodalitäten niedrig. 24 Stunden nach der Bestrahlung kehrten die durch die Partikelbestrahlung induzierte ATM- und CHK2-Phosphorylierung sowie die Anzahl der  $\gamma$ H2AX-Foci auf das Ausgangsniveau zurück, was für eine gute DNA Doppelstrangbruch (DSB) Schadensreparatur spricht.

Zusammenfassend wurde hier gefunden, dass eine relativ hohe Strahlenresistenz von MSC gegenüber Hoch-LET Strahlung (Protonen, Helium-, Kohlenstoff-, Sauerstoffionen) besteht. Nach Exposition mit moderaten Dosen bleibt die MSC Biologie intakt und die Zellen funktionsfähig. Die hier applizierten Strahlendosen können in Normalgeweben bei der Strahlentherapie von Krebs, aber auch bei Astronauten im All auftreten. Somit wären MSC keine limitierenden Faktoren für solche Anwendungen bzw. Zustände, denen sich Menschen aussetzen können. Aufgrund der erhaltenen MSC-Funktion erscheint bei diesen Dosen selbst eine MSC-basierte Therapie für verschiedene Krankheiten, einschließlich von Strahlenschäden, möglich. Künftig sind jedoch In-vivo-Modelle sinnvoll, die das Immunsystem und das Gefäßsystem einbeziehen, um die In-situ-Biologie und das therapeutische Potential von MSC nach Partikelbestrahlung in der Krebsmedizin oder im Weltraum besser und langfristig verstehen zu können.