

Dynamik der zellulären Aufnahme von Zinkoxid-Nanopartikeln in humanen mesenchymalen Stammzellen

Martin Wagner, Stephan Hackenberg, Rudolf Hagen, Nobert Kleinsasser

Einleitung

Nanotechnologie eröffnet vielversprechende Neuerungen für die Wirtschaft und in der Medizin. Aufgrund von Hinweisen auf toxische Eigenschaften bestimmter Nanopartikel (NP) ist zur Gewährleistung eines verantwortungsbewussten Umgangs mit NP eine detaillierte Analyse der Interaktionen mit humanen Zellen notwendig. Zinkoxid (ZnO)-NP gehören zu den am häufigsten eingesetzten Nanomaterialien (Abb. 1). Ziel dieser Studie war daher die Untersuchung der Zellaufnahme und Zellretention von ZnO-NP in humanen mesenchymalen Stammzellen.



Abb. 1: Zinkoxid-NP werden aufgrund ihrer photoprotektiven Eigenschaften u. a. in Sonnenschutzprodukten verarbeitet.

Material und Methoden

Die zelluläre Aufnahme von ZnO-NP wurde an humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) untersucht. Zunächst erfolgte die Evaluation der Zytotoxizität von ZnO-NP in hMSC. Die zelluläre Aufnahme und Retention von ZnO-NP wurde im Anschluss mit der nicht toxischen Konzentration von 10 µg/ml durchgeführt. Die Analyse unter Zuhilfenahme des Transmissionselektronenmikroskops (TEM) erfolgte nach 0,5, 1, 1,5 und 3 Stunden sowie nach 1, 3 und 6 Wochen. Hierbei wurde untersucht, ob ZnO-NP in die Zellen aufgenommen wurden und in welchen Zellkompartimenten diese zu finden waren. Dabei wurde unterschieden zwischen einer Partikellokalisierung in Vesikeln, im Zytoplasma, in Zellorganellen und im Zellkern.

Ergebnisse

ZnO-NP zeigen zytotoxische Eigenschaften ab einer Konzentration von 50 µg/ml (Abb. 2). Eine Aufnahme in die Zelle per Endozytose findet bereits in der ersten Stunde der Exposition statt (Abb. 3). Unmittelbar danach werden den Endozytosevesikel aufgelöst und die NP Aggregate finden sich im Zytoplasma sowie in Zellorganellen (Abb. 4). Auch eine NP-Invasion in den Zellkern konnte beobachtet werden (Abb. 5). Über den gesamten Beobachtungszeitraum von 6 Wochen waren intrazelluläre ZnO-NP nachweisbar (Abb. 6).

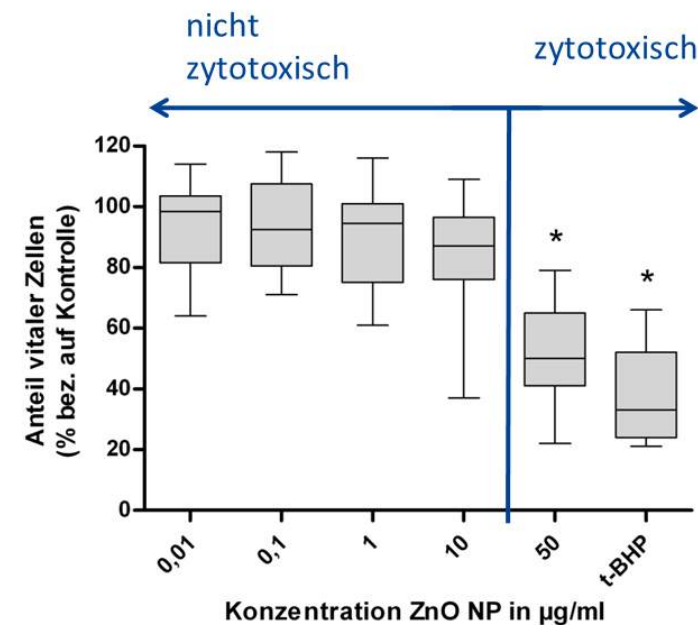


Abb. 2: Im MTT Test ergab sich eine signifikante Abnahme der Vitalität von hMSC ab einer ZnO-NP Konzentration von 50 µg/ml. Die TEM Untersuchungen erfolgten daher mit einer Konzentration von 10 µg/ml.

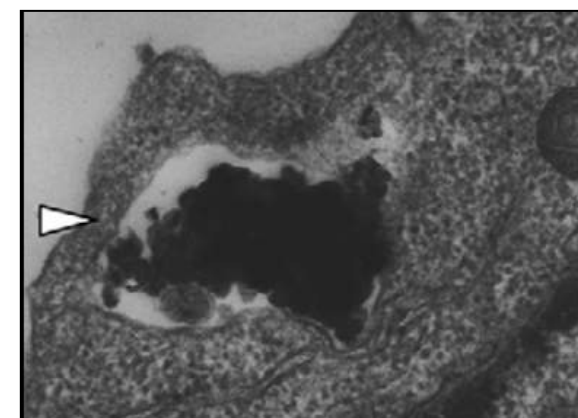


Abb. 3: TEM: Endozytotische Aufnahme von ZnO-NP Aggregaten (Pfeil). 30.000-fach, 1 h nach Exposition

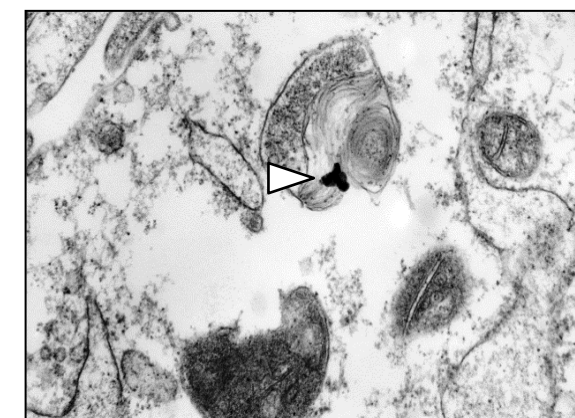


Abb. 4: TEM: Infiltration von Zellorganellen durch Zinkoxid-NP (Pfeil). 30.000-fach, 1 h nach Exposition

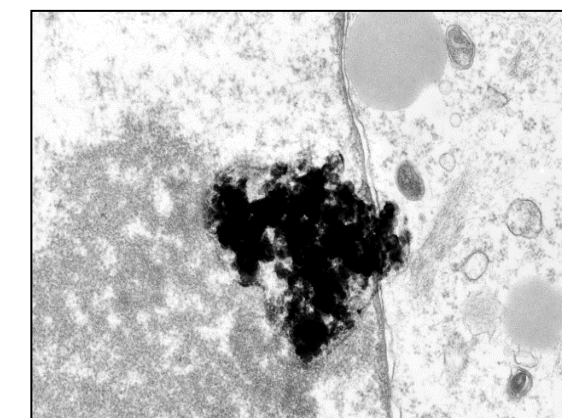


Abb. 5: TEM: ZnO-NP-Agglomerat penetriert den Zellkern mit Nucleolus, 20.000-fach, 3 h nach Exposition

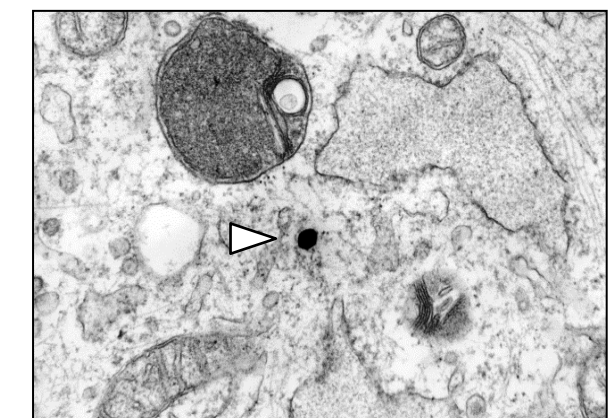


Abb. 6: TEM: Retention von ZnO-NP im Zytoplasma bis zu 6 Wochen (Pfeil). 30.000-fach, 6 Wochen nach Exposition

Schlussfolgerung

Im *in vitro* Testsystem werden ZnO-NP rasch in die Zellen aufgenommen. Bereits nach einer Stunde finden sich Partikelaggregate im Zytoplasma und den Organellen. Eine Transposition von NP in den Zellkern wird in der Literatur kontrovers diskutiert. In der vorliegenden Studie konnte eine Kerninvasion in Einzelfällen beobachtet werden. Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde keine zelluläre Ausschleusung gesehen. Dadurch könnte es vor allem durch repetitive Exposition zu intrazellulären Akkumulationen kommen, die toxische Effekte induzieren. In Folge sollten tierexperimentelle Untersuchungen zur Identifikation von relevanten Zielorganen erfolgen.