

Osteogen differenzierte Stammzellen hemmen die Angiogenese *in vitro*

Agmal Scherzad, Rudolf Hagen, Norbert Kleinsasser und Stephan Hackenberg

Einleitung:

Aktuell wird die therapeutische Anwendung von humanen mesenchymalen Stammzellen (MSC) in der Onkologie intensiv diskutiert. In unserer Arbeitsgruppe konnte eine protumorigene Wirkung von MSC auf Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomzellen (HNSCC) demonstriert werden. Ziel dieser Arbeit war es, das Zytokinmuster von nativen und differenzierten MSC sowie von HNSCC (FaDu) zu untersuchen. Weiterhin sollte im Rahmen dieser Studie der Einfluss der Differenzierung der MSC auf ihr Angiogenesepotential und ihre Migration evaluiert werden.

Material und Methoden:

Die Zytokinsekretion von FaDu, nativen MSC sowie osteogen und adipogen differenzierten MSC wurde mit dem Dot-Blot Assay evaluiert. Anschließend erfolgte eine Ko-Kultivierung der o. g. Zellen mit humanen Endothelzellen aus der Umbilikalvene (HUVEC). Hierbei wurde die „capillary like tube formation“ (CLTF) der HUVEC analysiert. Danach erfolgte die Kultivierung von MSC auf Matrigel. Weiterhin wurde die Zellmigration von nativen und differenzierten MSC in Richtung der FaDu Zellen evaluiert. Zuletzt wurden Sphäroide aus HUVEC, MSC und FaDu generiert.

Ergebnisse:

FaDu, native und differenzierte MSC sezernieren eine Vielzahl von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, z. B. IL-6, IL-8, GRO oder MCP (Abb. 1). Die CLTF zeigte, dass native MSC im Gegensatz zu differenzierten MSC und FaDu die Gefäßausprossung fördern (Abb. 2). Die MSC-Kultivierung auf Matrigel führte unter anderem zur Entstehung von Sphäroiden. Aus den Sphäroiden sprossen gefäßartige Strukturen heraus (Abb. 3). Native und adipogen differenzierte Stammzellen zeigten einen gesteigerten Tumortropismus, hingegen führte die osteogene Differenzierung zu einer Migrationshemmung (Abb. 4). Es gab keinen Unterschied zwischen Sphäroiden aus HUVEC und MSC verglichen mit Sphäroiden aus HUVEC, MSC und FaDu (Abb. 5).

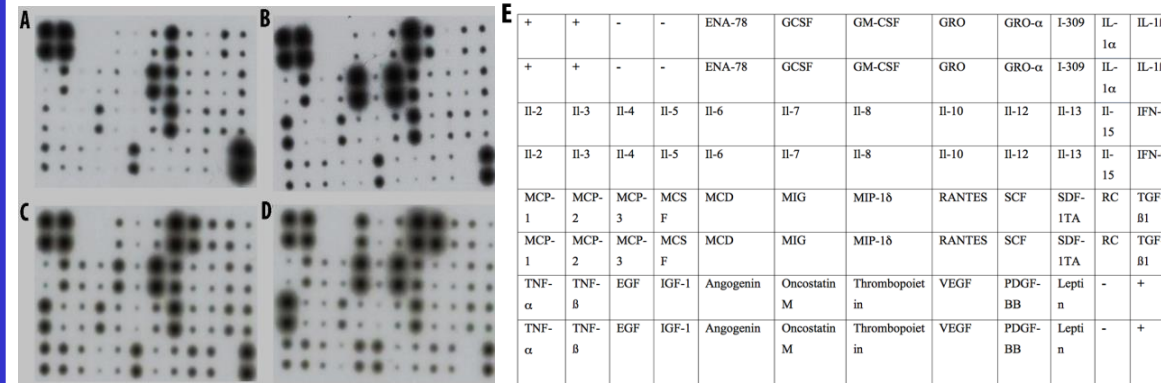


Abb. 1: Dot-Blot Assay von (A) FaDu, (B) nativen MSC, (C) adipogen und (D) osteogen differenzierten MSC. Untersuchung der Zytokinausschüttung nach 24h. Identifizierung der Zytokine anhand Tabelle (E)

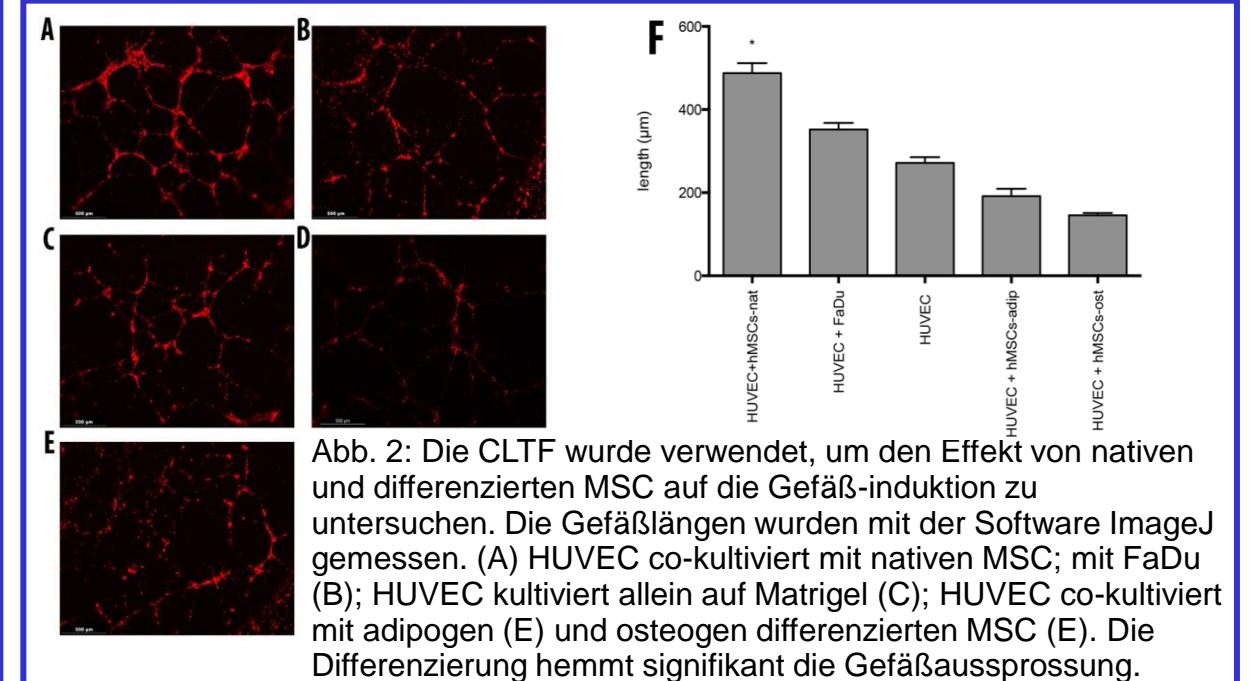


Abb. 2: Die CLTF wurde verwendet, um den Effekt von nativen und differenzierten MSC auf die Gefäß-induktion zu untersuchen. Die Gefäßlängen wurden mit der Software ImageJ gemessen. (A) HUVEC co-kultiviert mit nativen MSC; mit FaDu (B); HUVEC kultiviert allein auf Matrigel (C); HUVEC co-kultiviert mit adipogen (E) und osteogen differenzierten MSC (E). Die Differenzierung hemmt signifikant die Gefäßausprossung.

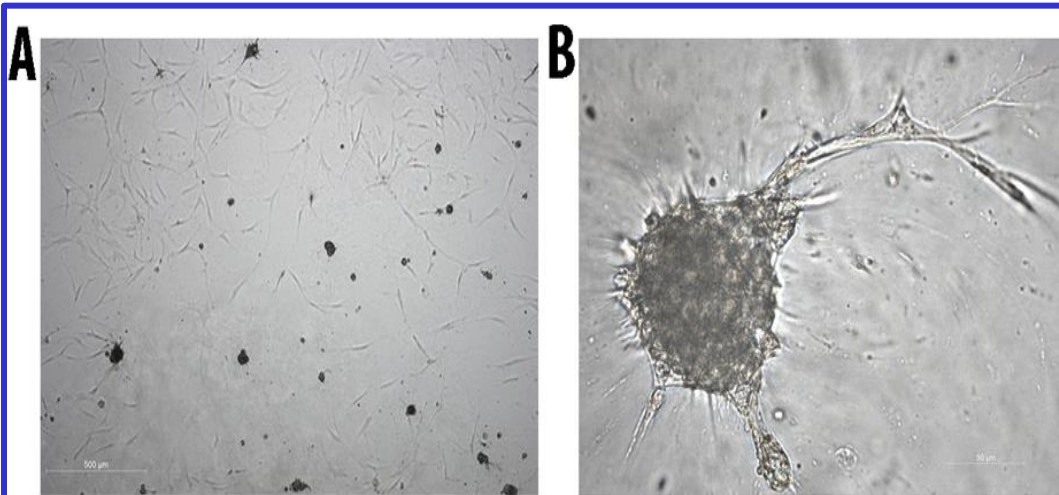


Abb. 3: MSC zeigen nach der Kultivierung auf Matrigel sowohl einen 2-dimensionalen als auch einen 3-dimensionalen Phänotyp (A). Aus den Sphäroiden sprossen gefäßähnliche Strukturen (B).

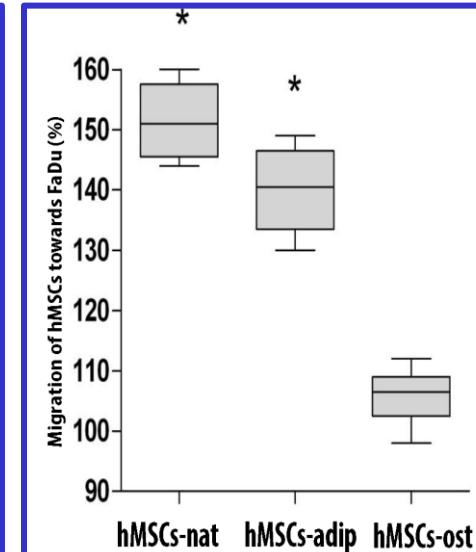


Abb. 4: Migrationsanalyse von nativen und differenzierten MSC. Osteogene Differenzierung hemmt die Migration der MSC.

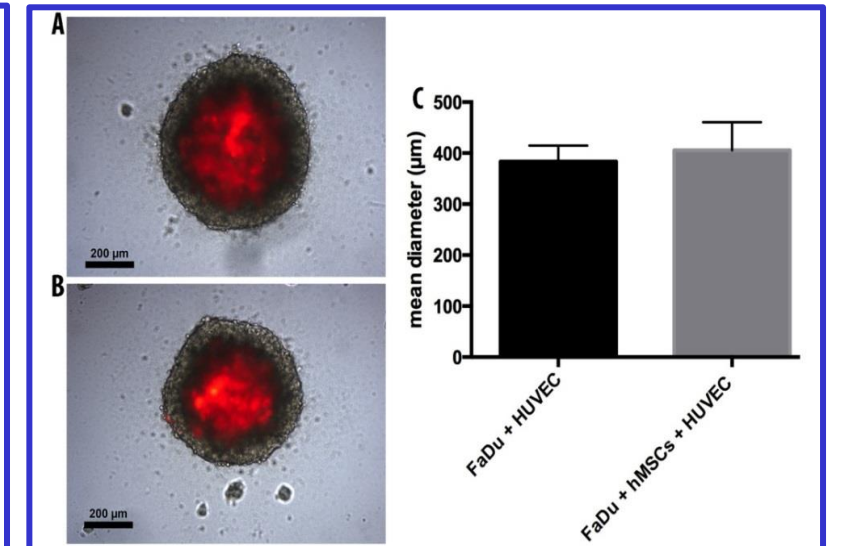


Abb. 5: Sphäroide aus FaDu und HUVEC (A) verglichen mit Sphäroiden aus FaDu, MSC und HUVEC (B). Es zeigen sich keine Unterschiede bezüglich ihrer Größe und Stabilität (C).

Schlussfolgerung:

Native Stammzellen haben einen proangiogenen Effekt. Durch die Differenzierung der Stammzellen kann dieser Effekt gehemmt werden. Eine adipogene Differenzierung führt nicht zu einer Alteration der Zellmigration. Unsere *in vitro* Ergebnisse zeigen, dass adipogen differenzierte MSC einen potentiellen Kandidaten für ein zukünftiges Vehikel einer Tumorthherapie darstellen. Um diese *in vitro*-Ergebnisse zu evaluieren, sind *in vivo*-Untersuchungen in einem Tiermodell notwendig.