

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Fibronektin und des daraus rekombinant synthetisierten Retronektins auf die Proliferation von leukämischen Blasten der AML-Zelllinie CS-1 in Wechselwirkung mit SCF-IgG1 untersucht.

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie wurde bestätigt, dass die Blasten der Zelllinie CS-1 auf ihrer Oberfläche den SCF-Rezeptor *c-kit* und in geringerem Maße den hochaffinen Fc $\gamma$ RI-Rezeptor exprimieren. Die verwendete Präparation des SCF-IgG1 war intakt und das Fusionsprotein konnte sowohl über seinen SCF-Teil als auch über seinen IgG1-Teil an die Zellen binden.

Über seinen IgG1-Teil konnte das Fusionsprotein an plastikgebundene Fc-spezifische Fangantikörper in Zellkulturplatten gebunden werden. Der SCF-Teil des matrixgebundenen Fusionsproteins konnte auf diese Weise mit den *c-kit*-Rezeptoren auf der Oberfläche von CS-1-Zellen interagieren. Diese Matrixbindung führte zu einer lichtmikroskopisch sichtbaren Gestaltänderung der CS-1-Zellen.

Mit Hilfe des [ $^3$ H]-Thymidin-Einbaus wurde gezeigt, dass im Kulturmedium gelöster nativer SCF die Proliferation von CS-1-Zellen steigert. Das SCF-IgG1-Fusionsprotein stimulierte in gebundener und in gelöster Form die Proliferation der CS-1-Zellen. Dabei lag das Maximum des [ $^3$ H]-Thymidin-Einbaus beim gelösten SCF um etwa 30% niedriger als beim gelösten SCF-IgG1. In matrixgebundener Form war der proliferationsstimulierende Effekt des SCF-IgG1 auf die CS-1-Zellen um 45% geringer als beim gelösten Fusionsprotein.

Sowohl Fibronektin als auch Retronektin hemmten signifikant die Proliferationsrate im Vergleich zu den Kulturen ohne Matrixkomponenten. Dieser Effekt zeigte sich unabhängig davon, ob die Kulturen zusätzlich gelöstes SCF oder SCF-IgG1 enthielten. Die Kombination von gebundenem SCF-IgG1 mit ebenfalls plastikgebundenem Fibronektin bzw. Retronektin reduzierte die Proliferation unter das Niveau der Basisproliferation. Das rekombinante Retronektin zeigte in Kombination mit matrixgebundenem SCF-IgG1 eine tendenziell stärkere inhibitorische Wirkung als Fibronektin.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Proliferation leukämischer Blasten durch die Bindung an eine aus nur zwei Komponenten zusammengesetzte artifizielle Matrix inhibiert werden kann. Darauf aufbauend könnte in Zukunft das *in-vitro-Purging* optimiert werden, indem bei der LT BMC autologer Stammzelltransplantate definierte immobilisierte Komponenten der ECM die Stromazellen ersetzen. Weitergehende Untersuchungen sind notwendig, um die Wirkung von SCF-IgG1 in Kombination mit Fibronectin bzw. Retronectin auf primäre maligne und gesunde hämatopoetische Progenitorzellen näher zu erforschen.