

4 Diskussion

Um adulte Stammzellen zu erkennen, nutzt man deren Hauptmerkmale. Es handelt sich um undifferenzierte Zellen, die in sehr geringer Anzahl in einem differenzierten Zellverband vorkommen. Sie besitzen die Fähigkeit der Selbstreplikation und Teilung in Vorläuferzellen. Durch Impulse des umliegenden Zellmilieus, Zellkontakte und Wachstumsfaktoren entstehen aus den Vorläuferzellen differenzierte, organspezifische Zellen (7).

Adulte Stammzellen wurden in einer Reihe von Organen nachgewiesen, wie Epidermis, Knochenmark, Darmepithel, Leber, Pankreas und Lunge (156).

Unsere Arbeitsgruppe konnte erstmalig adulte Stammzellen und Vorläuferzellen in der Schilddrüse nachweisen und von normalen, differenzierten Thyreozyten unterscheiden. (23). Die Thyreozyten sind die größte Zellpopulation der Schilddrüse. Ihre embryonale Herkunft ist das Entoderm. Wir wählten daher die entodermalen, multipotenten Marker GATA-4 und HNF4 α , sowie die Stammzellmarker Oct4 und p63 aus und untersuchten benignes, noduläres Schilddrüsengewebe auf die Expression dieser Faktoren.

GATA-4 und HNF4 α sind Transkriptionsfaktoren, die während der Formation des entodermalen Keimblattes in der frühen Embryogenese eine wichtige Rolle spielen (72,81). In terminal differenzierten Zellen lassen sich beide Marker nicht mehr nachweisen (74, 84).

Oct4 kommt in der Embryogenese eine entscheidende Bedeutung beim Erhalt der Pluripotenz der Keimbahnzellen bis zur Gastrulation zu (37). In adulten Stammzellen verschiedener Gewebe konnten Tai et al Oct4 nachweisen, jedoch nicht in differenzierten Zellen (50). Oct4 stellt damit einen geeigneten Marker für undifferenzierte, pluripotente Zellen dar.

p63 wurde in den Hauptzellen der soliden Zellnester der Schilddrüse von Reis-Filho et al entdeckt (61). Solide Zellnester sind embryonale Überreste des postbranchialen Körpers der Schilddrüse. Sie werden als geweblicher Ursprung adulter Stammzellen in der Schilddrüse angesehen. Dagegen fand sich in differenzierten Schilddrüsenzellen kein p63.

Mittels Polymerase-Kettenreaktion wurde die mRNA Expression von GATA-4, HNF4 α , p63 und Oct4 in Schilddrüsenzellen nachgewiesen. Ebenso stellten sich in der Immunzytochemie wenige Stammzellmarker positive Zellen dar. In der differenzierten Schilddrüsenzelllinie FRTL5 ließen sich keine Stammzellmarker nachweisen. Ebenso waren etablierte Tumorzelllinien, wie HTC und HTh74 (eine follikuläre und eine anaplastische Schilddrüsenkarzinomzelllinie) für die untersuchten Marker negativ.

Ziel dieser Arbeit war die weiterführende Charakterisierung des Expressionsprofils adulter Stammzellen und ihrer Vorläuferzellen in der Schilddrüse. Mit Hilfe der Durchflußzytometrie und FACS sollten Marker positive Zellen isoliert und auf weitere Faktoren untersucht werden. Durch Veränderung der Kulturbedingungen sollte die Propagierung der

adulten Stammzellen und Vorläuferzellen in einer Primärzellkultur gelingen.

4.1 Detektion adulter Stammzellen und Vorläuferzellen in Schilddrüsengewebe

Entodermale und pluripotente Stammzellmarker

In der Durchflußzytometrie ließ sich eine geringe Zellzahl, positiv für Oct4, GATA-4, HNF4 α oder p63 detektieren. 0,1 bis 1,5 % der untersuchten Zellpopulation wiesen ein oder mehrere der gesuchten Marker auf. Dabei ließen sich diese Zellen von differenzierten, Thyreoglobulin produzierenden, Zellen unterscheiden. Via FACS gelang die Isolierung der Marker positiven Zellen. Anschließend wurde in der Polymerase-Kettenreaktion ihr Expressionsprofil weiter spezifiziert. GATA-4, HNF4 α und p63 positive Zellen waren ebenso Oct4 positiv. Dagegen waren die Thyreoglobulin positiven Zellen Oct4 negativ.

Demnach existieren in der Schilddrüse undifferenzierte, Thyreoglobulin negative Zellen. Die Marker GATA-4 und HNF4 α beschrieben deren entodermale Herkunft. Durch die Marker Oct4 und p63 wurden ihre Stammzeleigenschaften hervorgehoben.

Adulte Stammzellen und Vorläuferzellen wurden auch noch in Schilddrüsenknoten sehr alter Patienten (bis 80 Jahre) detektiert. Außerdem waren adulte Stammzellen in mehrfach passagierten Schilddrüsenzellkulturen in geringer Anzahl noch nachweisbar. Es wurde keine Abnahme der Stammzellmarker, im Sinne eines Verlustes adulter Stammzellen in Kultur, beobachtet. Das Verhältnis von Thyreozyten und adulten Stammzellen blieb über die Anzahl der Passagierungen in etwa konstant.

Diese Tatsache spiegelt die wichtige Fähigkeit der Selbstreplikation adulter Stammzellen wider. In vitro äußert sich diese Eigenschaft in einer konstanten Stammzellpopulation. Reya et al beschrieben die Balance von Selbstreplikation und Differenzierung als eine wichtige Stammzellfunktion in vivo. Dadurch kann eine Zellhomöostase über die gesamte Lebensspanne eines Organismus erreicht werden (160).

Die Side Population und die erhöhte ABCG2 Expression als Stammzellmarker

Die durchflußzytometrische Analyse der Side Population stellt ein Alternativverfahren zur Isolierung adulter Stammzellen dar. Die Side Population definiert eine geringe Anzahl von Zellen, die den fluoreszenten DNA Bindungsfarbstoff Hoechst 33342 nicht aufnehmen. Adulte Stammzellen sind durch diese Eigenschaft gekennzeichnet.

Das ABCG2 Transportergen ist für den Phänotyp der Zellen der Side Population verantwortlich. Es ist bekannt, daß die Side Population mehr ABCG2 exprimiert als die Non Side Population (129). Die Side Population wurde in verschiedenen Geweben isoliert und die

Zellen mittels spezifischer Marker als adulte Stammzellen definiert, so im Ösophagus, Skelettmuskel, Leber, Lunge, Pankreas und Darm (120-127).

Dies konnte nun für die Schilddrüse ebenfalls bestätigt werden. In der Durchflußzytometrie stellte sich eine Side Population dar, die weniger als 0,1% der Gesamtzellzahl enthielt. In der anschließenden Polymerase-Kettenreaktion zeigte sich eine erhöhte ABCG2 Aktivität der Side Population, wie es auch Kim et al für hämatopoetische Stammzellen nachwies (129). Außerdem waren diese Zellen für den pluripotenten Stammzellmarker Oct4 positiv.

Die Non Side Population enthielt die Hauptpopulation der Schilddrüsenzellen. Sie zeigte eine niedrigere ABCG2 Aktivität und war negativ für Oct4.

Diese Resultate bestätigten das Vorhandensein adulter Stammzellen in der Schilddrüse. Die Side Population enthielt eine geringe Anzahl pluripotenter Zellen, die eine erhöhte ABCG2 Aktivität aufwiesen - beides Charakteristika adulter Stammzellen.

4.2 Connexin 43 und die Bedeutung von Zell-Zellkommunikation in Schilddrüsenzellen und adulten Stammzellen

Connexine sind porenbildende Transmembranproteine, die in differenzierten Geweben einen Informationsaustausch zwischen Zellen ermöglichen. Durch diese Zell-Zellkommunikation werden normale Entwicklungsprozesse im Gewebeverband reguliert, wie Differenzierung, Wachstumskontrolle, Reparaturmechanismen und programmierter Zelltod (89). Connexine wurden in einer Vielzahl differenzierter Gewebe nachgewiesen (86). Thyreozyten exprimieren Connexin 32 und Connexin 43. In Monolayern kultivierte Thyreozyten exprimieren Connexin 43 (91). TSH führt zu einer erhöhten Synthese beider Connexine und induziert gleichzeitig die Öffnung der Zell-Zellkanäle. Die Zell-Zellkommunikation dient unter anderem der Kontrolle der Proliferationsrate der Thyreozyten.

Connexin 43 wurde in allen primären Schilddrüsenkulturen mittels Polymerase-Kettenreaktion nachgewiesen. Dagegen waren die via FACS isolierten GATA-4, HNF4 α , p63 und Oct4 positiven Zellen für Connexin 43 negativ. Diese Zellen unterschieden sich demnach von der Hauptpopulation der Schilddrüse, den Thyreozyten, durch fehlende oder nicht funktionsfähige Zell-Zellkontakte.

Die fehlende Connexinexpression adulter Stammzellen wurde in einer Reihe von Publikationen beschrieben. In adulten Stammzellen der Epidermis, Brust- und Nierenepithel, sowie H6c7, einer humanen Pankreasepithelzelllinie, fand sich kein Connexin. Das Fehlen von Connexin und funktionsfähiger Zell-Zellkontakte stellt somit ein weiteres Charakteristikum adulter Stammzellen dar (89).

Dabei handelt es sich um einen reversiblen Funktionsverlust der Zell-Zellkanäle. Kao et al wiesen nach, daß die fehlende Connexinexpression adulter Stammzellen von Brustepithelzellen induzierbar, und damit reversibel, ist. Nach Induktion der Connexinexpression kam es zur Ausbildung funktionsfähiger Zell-Zellkanäle (158). Dieser Fakt stellt einen wichtigen Unterschied zwischen adulter Stammzelle und Tumorzelle dar. In Tumorzellen handelt es sich um einen irreversiblen Funktionsverlust.

Somit konnte eine weitere Eigenschaft adulter Stammzellen der Schilddrüse spezifiziert werden. Adulte Stammzellen unterschieden sich von den Thyreozyten durch fehlende Connexinexpression. Die dadurch fehlenden Zell-Zellkanälen und Zell-Zellkommunikation unterstrichen ihren Stammzellcharakter.

4.3 Propagierung adulter Stammzellen in einer Schilddrüsenzellkultur

4.3.1 Die SACK Methode als alternativer Ansatz zur Gewinnung einer Stammzellkultur

Adulte Stammzellen sind durch eine asymmetrische Zellkinetik charakterisiert. Aus einer adulten Stammzelle gehen nach Teilung eine identische Stammzelle und eine Vorläuferzelle hervor, die sich wiederum in Gewebszellen differenzieren kann. Trotz Zellerneuerung ermöglicht somit die asymmetrische Zellkinetik eine Homöostase im Gewebeverband. Eine in vitro angestrebte Stammzellproliferation wird so jedoch verhindert.

Das Prinzip der SACK Methode (Suppression of Asymmetric Cell Kinetic) besteht in der Unterdrückung der asymmetrischen Stammzellkinetik, um so die Anzahl an Stammzellen in einer Kultur zu erhöhen (103). Das Tumorsuppressorgen p53 führt durch eine Unterregulation von Inosine-5-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) zu einer Reduktion der Guanin Nukleotid Synthese. p53 stellt somit einen wichtigen Regulator der asymmetrischen Stammzellkinetik dar. Xanthosin, ein Purin Nukleotid, verhindert die IMPDH Unterregulation und kann so die asymmetrische Zellkinetik in eine symmetrische Zellkinetik umwandeln (104). Die Folge wäre, daß sich eine adulte Stammzelle in mehrere Tochterstammzellen teilt. Somit wäre eine Propagierung adulter Stammzellen in vitro möglich.

Angelehnt an die SACK Theorie entwarfen Lee et al ein Protokoll zur Gewinnung einer reinen Stammzellkultur aus Rattenleberepithelzellen durch Kombination verschiedener Kulturbedingungen (108).

Mit dem Ziel, adulte Stammzellen in vitro zu propagieren, adaptierten wir dieses Protokoll. Es wurde der Einfluß von Xanthosin auf die Expression des Stammzellmarkers Oct4 und des entodermalen Markers GATA-4 untersucht.

In früheren Experimenten unserer Arbeitsgruppe mit niedrigeren Xanthosin-

konzentrationen (200 und 400 μM), kürzerer Behandlungszeit (48 h- 30 Tage) und geringer Zelldichte wurden keine Veränderungen der Stammzellmarker beobachtet (23). Wir erhöhten die Xanthosinkonzentration (1 mM) unter der Vorstellung, daß die von Lee et al verwendete Konzentration für Leberstammzellen etabliert wurde und für Schilddrüsenzellen ungeeignet war.

In den Gruppen mit Xanthosinbehandlung stieg die Zahl der Oct4 positiven Zellen, im Vergleich zu den Kontrollgruppen, deutlich an. Die Zahl der GATA-4 positiven Zellen veränderte sich dagegen nicht unter Xanthosineinfluß.

Die asymmetrische Stammzellkinetik kann demnach durch Xanthosin supprimiert werden. Somit ist eine Stammzellpropagierung in vitro durch Xanthosineinfluß möglich. Das drückt sich in einer Vermehrung Oct4 positiver Zellen aus.

GATA-4 als entodermaler, multipotenter Marker charakterisiert adulte Stammzellen und entodermale Vorläuferzellen der Schilddrüse. Vorläuferzellen unterliegen nicht der asymmetrischen Zellkinetik. Deshalb scheint auch Xanthosin keinen Einfluß auf diese Zellen zu haben.

4.3.2 Die Bedeutung von 17 β -Östradiol für das Differenzierungs- und Proliferationspotential adulter Stammzellen

Östrogen ist ein wichtiges Hormon für die sexuelle Differenzierung und Reproduktion eines Organismus. Außerdem spielt es bei einer Vielzahl von physiologischen Prozessen eine wichtige Rolle. Östrogen- Rezeptoren lassen sich in einer Reihe von Organen nachweisen, etwa im Gehirn, im Herzmuskel und in der Schilddrüse.

Untersuchungsgegenstand war die Wirkung von 17 β -Östradiol auf adulte Stammzellen einer Schilddrüsenprimärzellkultur. Mit steigender Östrogenkonzentration im Nährmedium fiel eine Zunahme von Oct4 positiven Zellen auf. Unter dem Einfluß von 17 β -Östradiol kam es somit zu einer Propagierung adulter Stammzellen in der Zellkultur.

Es ist bekannt, daß embryonale und adulte Stammzellen über Östrogen- Rezeptoren (α , β) und über eine große Anzahl an Rezeptoren für Wachstumsfaktoren verfügen (159). Den Einfluß von Östrogen auf die Proliferation und Differenzierung embryonaler Stammzellen untersuchten Ho et al (162). Sie wiesen nach, daß die DNS- Synthese der embryonalen Stammzellen der Maus durch 17 β -Östradiol stimuliert wurde. Die dadurch induzierte Proliferation embryonaler Stammzellen konnte durch den Östrogenantagonist Tamoxifen aufgehoben werden.

Seok et al wiesen den Effekt von Steroidhormonen auf den Differenzierungs- und Proliferationsprozeß von humanen embryonalen Stammzellen nach (115). Nach der Behandlung mit 17 β -Östradiol wurden in der Polymerase-Kettenreaktion verschiedene Marker, wie GATA-4 und α -Fetoprotein, im Sinne eines induzierten Differenzierungsprozesses, detektiert.

Brannval et al konnten nachweisen, daß 17β -Östradiol die Differenzierung und Proliferation adulter neuronaler Stammzellen via Östrogenrezeptoren beeinflusst (116).

Östrogen scheint demnach eine Schlüsselrolle in der Regulation von Differenzierung und Proliferation adulter Stammzellen zuzukommen.

4.4 **Schilddrüsentumore und Tumorstammzellen**

Reya et al beschrieben die Gemeinsamkeiten von Tumorzellen und Stammzellen, die neue Aspekte der Tumorbiologie beleuchteten (161). Viele Experimente sprechen dafür, daß Stammzellen eine Quelle der Tumorentwicklung darstellen. Tumorgewebe scheint, ebenso wie differenziertes Organgewebe, in hierarchischen Zellstrukturen organisiert zu sein. Tumorstammzellen, Vorläuferzellen und differenzierte Zellen bilden in Tumoren eine gemischte Zellpopulation mit unterschiedlichen Charakteristika. Für das Tumorstammzellenwachstum sind die Tumorstammzellen verantwortlich. Sie zeichnen sich durch die Fähigkeit der Selbstreplikation und Differenzierung aus. Dysregulation verschiedener Signalwege (zum Beispiel des WNT Signalwegs und verschiedener Onkogene) kann zur Tumorentstehung führen.

Tumorstammzellen wurden in verschiedenen Tumoren detektiert, wie im Mammakarzinom, Tumoren des zentralen Nervensystems, in Tumoren der Lunge, der Prostata und des Pankreas (166).

Mitsutake et al wiesen Tumorstammzellen in anaplastischen, papillären und follikulären Karzinomzelllinien der Schilddrüse nach (167).

Die Schilddrüse ist ein Organ mit niedriger Wachstumsrate und geringem Zellumsatz. Daher ist für die Funktion der Schilddrüse die Homöostase der Thyreozyten wichtig. Eine Dysregulation in diesem Regelkreis könnte demzufolge zu malignen Gewebeveränderungen führen.

Stammzellmarker und Schilddrüsentumore

In unserer Arbeitsgruppe wurden von Thomas et al Zelllinien eines anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms (HTh74), sowie eines follikulären Karzinoms (HTC) auf typische Stammzellmarker der Schilddrüse untersucht (23). Beide Karzinomzelllinien waren für GATA-4, HNF4 α , p63 und Oct4 negativ. Möglicherweise kommt es in malignen Schilddrüsenengeweben zu einer Unterregulierung der Stammzellmarker. Tumorstammzellen lassen sich durch andere Merkmale, wie die Side Population, definieren.

Connexin 43 und Schilddrüsentumore

In der anaplastischen Karzinomzelllinie HTh74 wurde Connexin 43 vermindert produziert. Das bestätigt, daß Schilddrüsentumore, wie auch adulte Stammzellen der Schilddrüse, keine funktionellen Zell-Zellkanälen besitzen. Der Verlust der Wachstumskontrolle, der terminalen Differenzierung und Apoptose ist die Folge.

Auch andere Tumore sind durch eine Unterregulierung von Connexin gekennzeichnet. Sheen et al verglichen die Expression von Connexin 26 und 32 in differenziertem Lebergewebe und im hepatozellulären Karzinom. Dabei zeigte sich in der Polymerase-Kettenreaktion eine Verminderung von Connexin 26 und 32 im Karzinomgewebe gegenüber gesundem Lebergewebe (99).

Tai et al sehen in der fehlenden Interzellkommunikation einen wichtigen Faktor der Tumorentstehung. Die Unterregulierung der Connexine stellt anfangs einen reversiblen Prozeß dar und wird durch Wachstumsfaktoren, Hormone oder exogene Onkogene initiiert. Später führen aktivierte Onkogene und der Verlust von Tumorsuppressorgenen zum irreversiblen Verlust von Connexinen und funktionellen Zell-Zellkanälen. Verschiedene Tumorsuppressorgene können dagegen die Connexinproduktion hochregulieren (89).

Ein therapeutischer Ansatz der Onkologie läge somit in der Restaurierung der Zell-zellkanäle durch Suppression verschiedener Onkogene oder Aktivierung von Tumorsuppressorgenen (92).

Die Side Population und Schilddrüsentumore

In HTh74, einer anaplastischen Schilddrüsenkarzinomzelllinie, identifizierten wir die Side Population via Durchflußzytometrie.

Mitsutake et al bestimmten in einer Reihe von 5 anaplastischen, papillären und follikulären Karzinomzelllinien der Schilddrüse die Side Population und charakterisierten sie mittels anderer Marker als Tumorstammzellen (167). Die Konzentration der Zellen der Side Population fiel dabei umso höher aus, je invasiver das Tumorwachstum der jeweiligen Karzinomzelllinie war. Patrawala et al konnten diese Korrelation für verschiedene Mammakarzinomzelllinien nicht bestätigen (168). Ob die Konzentration der Tumorstammzellen in der Side Population einen Hinweis auf die Aggressivität eines Tumors gibt, ist demnach noch nicht abschließend zu bewerten.

Schilddrüsentumore sind häufige endokrine Tumore. Das anaplastische Schilddrüsenkarzinom geht mit einer hohen Letalität einher (169). Diese Tumoren weisen häufig eine Resistenz gegen Chemotherapeutika und Strahlentherapie auf. Medikamentenresistente Tumorzellen stellen ein großes Problem der chemotherapeutischen Tumorthherapie dar. In Tumorgeweben führen die Tumorstammzellen durch Überexpression des ABCG2 Transporter-

gens zu einer Medikamentenresistenz. Tumorstammzellen lassen sich in der Durchflußzytometrie durch die Side Population und eine erhöhte ABCG2 Aktivität von anderen Tumorzellen unterscheiden. Eine bessere Charakterisierung der Tumorstammzellen in malignem Gewebe könnte neue therapeutische Möglichkeiten eröffnen, bis hin zu ihrer Isolierung und Eliminierung.

17 β -Östradiol und Schilddrüsentumore

Die Pathogenese von Schilddrüsentumoren wird durch eine Reihe von genetischen Faktoren und Umweltfaktoren bestimmt. Dazu zählen genetische Prädispositionen, Jodmangel und die Überexpression von Wachstumsfaktoren (164).

Der Einfluß von Östrogen auf das Wachstum verschiedener Tumore, wie Mammakarzinom und Endometriumkarzinom ist bekannt.

Ein proliferativer Effekt von 17 β -Östradiol auf Schilddrüsentumorzellen wurde in unserer Arbeitsgruppe von Manole et al festgestellt (111). Durch die Behandlung von benignen nodulären Schilddrüsenengeweben und 2 Schilddrüsenkarzinomzelllinien mit 17 β -Östradiol erreichten sie eine direkte Wachstumsstimulation der Tumorzellen. Ein Östrogenantagonist (ICI 182780) verhinderte diesen proliferativen Effekt .

In verschiedenen Schilddrüsentumoren wurden außerdem höhere Konzentrationen an Östrogenrezeptoren im Vergleich zu normalem Schilddrüsenengewebe beschrieben (165).

Diese Resultate sprechen dafür, daß 17 β -Östradiol einen Einfluß auf die Tumorentwicklung der Schilddrüse hat. Dies paßt auch zu der klinischen Beobachtung, daß Schilddrüsenkarzinome 3 mal häufiger bei Frauen als bei Männern auftreten.

In unseren Experimenten konnte ein proliferativer Einfluß von 17 β -Östradiol auf adulte Stammzellen der Schilddrüse gezeigt werden.

4.5 Adulte Stammzellen als Zellkultur

Kultivierung adulter Stammzellen nach FACS

Die Anzahl adulter Stammzellen ist in Geweben sehr gering. Durch FACS können etwa 50000 Zellen/ Sekunde analysiert werden. Bei einer geschätzten Häufigkeit von 1 Stammzelle : 25000 differenzierten Zellen können via FACS etwa 2 Stammzellen/ Sekunde oder 7200 Stammzellen/ Stunde isoliert werden. Für eine klinische und therapeutische Nutzung ist diese Anzahl zu gering (163). Daher kommt der Kultivierung adulter Stammzellen und der Bildung einer proliferierenden Stammzellpopulation eine große Bedeutung zu.

Publikationen über erfolgreich isolierte und kultivierte Stammzellen aus differenzierten Geweben sind selten. Dabei handelt es sich ausschließlich um Gewebe mit einer hohen Wachstumsrate und hohem Zellumsatz, wie Leber (17), Epidermis (15), Skelettmuskel

(22) und Knochenmark (8). Die Schilddrüse ist ein Organ mit geringem Zellumsatz und niedriger Proliferationsrate der Stammzellen.

In einer Reihe von Experimenten gelang es uns nicht, isolierte Stammzellen der Schilddrüse als Monolayer oder in Matrigel zu kultivieren. Trotz unterschiedlicher Nährmedien und Stimulationen durch Wachstumshormone proliferierten die Zellen nicht.

Eine mögliche Ursache wurde in der Veränderung der Zellmorphologie durch die Immunfluoreszenzmarkierung und Durchflußzytometrie gesehen. Es wurden Methoden zur möglichst schonenden Präparation der Zellen verglichen (siehe Methoden 2.10.1; 2.10.4; 2.11).

Bei der mikroskopischen Kontrolle nach FACS stellten sich die isolierten Zellen vital dar. Sie wiesen eine intakte und homogene Zellmorphologie auf. Zellveränderungen und Zellmembranschädigungen nach FACS konnten demnach nicht ausschließlich das fehlende Wachstum isolierter Stammzellen erklären.

Die Bedeutung von Nischen- Zellen für eine Stammzellkultur

Die Ursache, weshalb isolierte adulte Stammzellen der Schilddrüse trotz Wachstumsstimuli in vitro nicht proliferierten, kann durch die fehlenden Regulationsmechanismen der sogenannten Nischen- Zellen (niche cells) und Extrazellulärmatrix erklärt werden. Adulte Stammzellen halten während der gesamten Lebensspanne eines Organs die Balance zwischen Selbstreplikation und Differenzierung. Diese wichtige Stammzellfunktion wird durch intrinsische und extrinsische Signale reguliert. Intrinsische Signale werden vom genetischen Programm der Stammzelle selbst gesteuert. Die extrinsischen Signale erhalten adulte Stammzellen vom umgebenden Zellmilieu, den Nischen- Zellen (170). Extrinsische Signalmoleküle, die adulte Stammzellen beeinflussen, sind unter anderem Wnt, BMP zur Kontrolle der Stammzellreplikation und E-cadherin, Integrin zur Verankerung der Stammzellen.

Li et al untersuchten die Stammzellnischen verschiedener Organe von Drosophila und Säugetieren und zeigten ihre Gemeinsamkeiten auf (171). Nischen- Zellen schützen vor unkontrollierten Differenzierungsstimuli und exzessiver Proliferation. Die asymmetrische Zellkinetik führt dazu, daß nach Teilung einer Stammzelle die Tochterstammzelle in der Umgebung der Nischen verbleibt. Die andere Tochterzelle, eine Vorläuferzelle, verläßt die Nische und kann sich in eine differenzierte Gewebezelle entwickeln. Somit koordinieren Nischen- Zellen die Zellhomöostase im Gewebeverband. Außerdem fixieren sie adulte Stammzellen im Gewebe, in dem sie mit ihnen eine anatomische Struktur und physiologische Verankerung bilden.

Um adulte Stammzellen erfolgreich zu kultivieren, ist demzufolge eine Cokultur mit anderen Zellen erforderlich. Nur so kann ein intakter Informationsaustausch und eine normale Stammzellfunktion gewährleistet werden.