

VI. Zusammenfassung

Knochenmarkstromazellen (KMSZ) wurden zum ersten Mal in den Siebziger Jahren durch ihre selektive Adhäsion an Kunststoffoberflächen von Zellkulturgefäßen gewonnen und als Kolonie-bildende Fibroblasten („colony-forming-unit fibroblasts“, CFU-F) beschrieben. Schon früh zeigte sich ihre Fähigkeit, in verschiedene mesenchymale Zelltypen wie Osteoblasten, Chondrozyten und Adipozyten zu differenzieren. KMSZ werden deshalb auch als mesenchymale Stammzellen bezeichnet.

In den letzten Jahren zeigten verschiedene Publikationen die Differenzierung *in vivo* oder *in vitro* in weitere Zelltypen wie Myoblasten, Zellen des Lungenepithels, Herzmuskelzellen und neurale Phänotypen (Astrozyten und Neuron-ähnliche Zellen). Damit differenzieren KMSZ nicht nur in nahe verwandte Zelltypen, sondern sogar in Zellen, die unterschiedlichen Keimblättern zugerechnet werden.

Die Fähigkeit von KMSZ, *in vitro* einen neuronalen Phänotyp zu entwickeln, wurde unter anderem in der Arbeit von Woodbury et al. (2000) gezeigt. Die Ursachen der Differenzierungsfähigkeit von KMSZ sind nicht bekannt. Weiterhin herrschte bis zum Beginn der vorliegenden Studie Unklarheit über den genauen (*in vivo*) Phänotyp von KMSZ. In der vorliegenden Arbeit sollte durch Genexpressionsanalysen mit Hilfe von cDNS-Mikroarrays ein molekulares Profil muriner KMSZ erstellt und ihre Differenzierung in Zellen mit einem neuronalen Phänotyp in einer Zeitreihenanalyse untersucht werden.

Undifferenzierte KMSZ der Maus exprimieren *in vitro* Gene, die für unterschiedliche Zelltypen wie z.B. neurale Zellen, verschiedene Muskelzelltypen, Zellen des Bindegewebes sowie Gefäß-assoziierte Zellen charakteristisch sind. Literaturvergleiche ergaben eine große molekulare Ähnlichkeit mit Perizyten. Perizyten sind Zellen, die in der Basalmembran kleiner Gefäße lokalisiert sind. Auch morphologisch besteht *in vitro* eine große Ähnlichkeit zwischen Perizyten und KMSZ. Zur genaueren Untersuchung wurden Kryoschnitte des adulten Knochenmarks mit Antikörpern gegen verschiedene Proteine von in KMSZ exprimierten Genen markiert, u.a. Cadherin 13, Vimentin, Slug und VE-Cadherin. Alle färbten übereinstimmend Gefäß-assoziierte Zellen an und unterstützen damit die Vermutung, daß es sich bei KMSZ um Perizyten des Knochenmarks handelt.

Die neuronale Differenzierung der KMSZ wurde zunächst durch Immunfärbungen neuraler Proteine (u.a. Neurofilament-M, Neuronen-spezifische Enolase, Nestin, RC2, GFAP, O4, GalC) validiert. Etwa 85% der kultivierten KMSZ synthetisierten nach zweitägiger Inkubation im Differenzierungsmedium NF-M, keine der kultivierten Zellen Marker für Astrozyten (GFAP) und Oligodendrozyten (O4, GalC).

Während der neuronalen Differenzierung muriner KMSZ änderte sich das Expressionsmuster vieler Gene, die für Proteine z.B. des Zytoskeletts, der extrazellulären Matrix sowie Komponenten der Signaltransduktion kodieren. Eine Funktion in der neuronalen Differenzierung wurde für verschiedene der festgestellten Gene bereits beschrieben. Aufgrund der differentiellen Expression des Transkriptionsfaktors Slug, der unter anderem entscheidend für die Epithelial-mesenchymale Transition während der Entstehung von Neuralleistenzellen ist, wurde die Expression weiterer Neuralleistenspezifischer Gene, Noelin, Twist und Snail, untersucht. Diese sind wie Slug bereits in undifferenzierten KMSZ exprimiert. Auch die Expressionsänderungen der Gene von Sox-8, -9 und -10, Wnt-1 und -3a sowie Pax-3 und -6 im Laufe der Differenzierung deuten auf Ähnlichkeiten der neuronalen Differenzierung adulter KMSZ mit Regulationsmechanismen der frühen neuronalen Entwicklung hin, genauer der Entstehung und Spezifizierung der Neuralleistenzellen. Diese Ähnlichkeiten werfen die Frage auf, ob KMSZ während ihrer neuronalen Differenzierung ein molekulares Programm aktivieren, welches ursprüngliche Entwicklungsschritte der neuronalen Entwicklung rekapituliert, oder ob KMSZ vielleicht selbst von Neuralleistenzellen abstammen. Mit einer möglichen neuroektodermalen Abstammung von KMSZ ließe sich ihr Differenzierungspotential erklären und es ergäben sich völlig neue Perspektiven, sie weiter entwicklungsbiologisch zu untersuchen.