

5 Zusammenfassung

Adulte Stammzellen sind undifferenzierte Zellen in einem differenzierten Gewebeverband, die einerseits die Fähigkeit zur Selbstreplikation besitzen und andererseits in spezialisierte Gewebezellen ihres eigenen Ursprungs differenzieren können (6). Adulte Stammzellen wurden in einer Vielzahl von Organen nachgewiesen.

Erstmalig konnte unsere Arbeitsgruppe adulte Stammzellen in nodulären Schilddrüsengeweben detektieren (23). In der weiterführenden Arbeit stand die Charakterisierung und Spezifizierung des Expressionsprofils adulter Stammzellen der Schilddrüse im Mittelpunkt. Die ausgesuchten Stammzellmarker GATA-4 und HNF4 α standen für die embryonale Herkunft der Schilddrüsenzellen, das Entoderm. Der Stammzellmarker Oct4 charakterisierte pluripotente Stammzellen. In einer Publikation von Reis-Filho (61) wurde p63 in Stammzellen der soliden Zellnester der Schilddrüse beschrieben und daher von uns ausgewählt. Die Durchflußzytometrie wurde als Methode zur Charakterisierung und gleichzeitigen Isolierung der gesuchten Stammzellen verwendet.

Es wurden wenige Zellen (0,1-1,5 % der Gesamtzellzahl) detektiert, die mehrere Eigenschaften einer Stammzelle erfüllen. Es handelte sich dabei um undifferenzierte, pluripotente Zellen (Oct4), die entodermalen Ursprungs waren (GATA-4, HNF4 α). Sie ließen sich von den differenzierten Zellen der Schilddrüse durch fehlende Thyreoglobulinexpression unterscheiden.

Sämtliche Marker ließen sich über mehrere Passagierungen einer Zellkultur in der Durchflußzytometrie nachweisen. Dies sprach für die Selbstreplikation der Marker positiven Zellen. Neben ihrem undifferenzierten Charakter stellte dies eine weitere wichtige Stammzeleigenschaft dar.

Differenzierte Schilddrüsenzellen exprimierten Connexin 43 Transmembranproteine, die für die Zell-Zellkommunikation im Gewebeverband wichtig sind. GATA-4, HNF4 α , p63 und Oct4 positive Zellen produzierten dagegen kein Connexin. Fehlende Connexinexpression stellte ein Charakteristikum adulter Stammzellen dar und wurde bereits für adulte Stammzellen in verschiedenen Geweben nachgewiesen (89).

Mit dem DNS Bindungsfarbstoff Hoechst 33342 ließ sich in der Durchflußzytometrie eine Side Population in Schilddrüsengeweben darstellen. Die Zellen der Side Population besaßen Stammzeleigenschaften. Sie waren Oct4 positiv und wiesen eine verstärkte ABCG2-Genaktivität auf. Im Gegensatz dazu war die Hauptpopulation der Schilddrüsenzellen, die Non Side Population, Oct4 negativ und wies eine geringere ABCG2 Aktivität auf.

Adulte Stammzellen sind durch eine asymmetrische Stammzellkinetik gekennzeichnet. Dadurch entstehen nach Teilung einer Stammzelle jeweils eine

Tochterstammzelle und eine Vorläuferzelle, die sich in differenzierte Gewebezellen weiter entwickeln kann. So bleibt die Zahl der Stammzellen im Gewebe konstant. Angelehnt an die SACK Methode (Suppression of Asymmetric Cell Kinetic) untersuchten wir den Einfluß von Xanthosin auf die Stammzellkinetik. Nach Behandlung primärer Schilddrüsenzellkulturen mit Xanthosin wurde die Proliferation Oct4 positiver, pluripotenter Zellen beobachtet. Durch Xanthosin gelang demnach eine Umwandlung der asymmetrischen Stammzellkinetik in eine symmetrische Zellkinetik. GATA-4 positive Zellen waren nicht durch Xanthosin zu beeinflussen. Wahrscheinlich stellen sie entodermale Vorläuferzellen dar, die nicht der asymmetrischen Zellkinetik unterliegen.

17 β -Östradiol hat eine wichtige Funktion für den Differenzierungs- und Proliferationsprozeß von Stammzellen. Östrogen Rezeptoren konnten in Schilddrüsenzellen, sowie in den isolierten adulten Stammzellen und Vorläuferzellen detektiert werden. Oct4 positive Stammzellen proliferierten unter der Behandlung der Schilddrüsenzellkultur mit 17 β -Östradiol.

Durch Änderung der Kulturbedingungen der Schilddrüsenzellkulturen gelang eine Stammzellproliferation. Eine reine Stammzellkultur wurde so jedoch nicht erreicht. Auch der Versuch einer Kultivierung isolierter adulter Stammzellen war nicht erfolgreich, am ehesten aufgrund fehlender extrinsischer Signale des umgebenden Zellmilieus, der Nischen- Zellen, und der Extrazellulärmatrix.

Im Ergebnis konnte diese Arbeit adulte Stammzellen der Schilddrüse in ihrem Expressionsprofil analysieren und wichtige Stammzeleigenschaften nachweisen. Durch Änderung der Kulturbedingungen gelang eine Beeinflussung adulter Stammzellen in vitro.

Das weitere Ziel unserer Arbeitsgruppe besteht darin, geeignete Kulturbedingungen für eine proliferierende Stammzellkultur der Schilddrüse zu finden. Durch Differenzierungsstimuli, wie TSH, könnten Veränderungen im Expressionsprofil der adulten Stammzellen im Sinne eines Differenzierungsprozesses, beobachtet werden. Damit wäre ein weiteres Merkmal adulter Stammzellen in der Schilddrüse bewiesen - ihre Fähigkeit zur Differenzierung.