

Charakterisierung von Stammzellen neu gedacht

Projektleitung:
Dr. med. vet.
Janina Burk

Ist Phosphatidylglycerol ein geeigneter Marker beim Pferd?

Regenerative Therapien mit adulten Stammzellen, insbesondere multipotenten mesenchymalen Stromazellen (MSC), sind in der Pferdemedizin Bestandteil orthopädischer Therapiekonzepte geworden. Nichtsdestotrotz bestehen noch Wissenslücken. Unter anderem gestaltet es sich nach wie vor schwierig, MSC exakt zu definieren. Für equine MSC geeignete Marker, welche die MSC einerseits klar von anderen Zelltypen abgrenzen und die andererseits auch Informationen über die Wirksamkeit der Zellen liefern, wurden bislang nicht identifiziert. Dieser Mangel führt zu Ungenauigkeiten und Unterschieden in den beforschten sowie therapeutisch angewendeten Zellfraktionen, so dass koordinierte Fortschritte erheblich erschwert werden.

Abbildungen 1:
MSC stimuliert mit 20 µM RSV vs. Kontrolle; rot: Mitochondrien; blau: Zellkern.

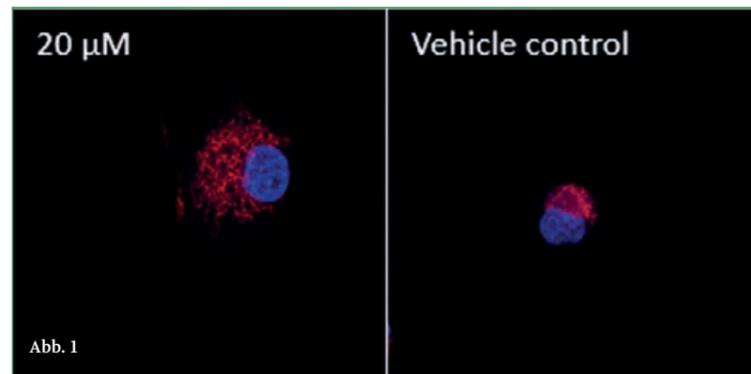


Abb. 1

Die Nutzung von Lipiden (wasserunlösliche Naturstoffe) für die Charakterisierung von Zellen hat in jüngster Zeit zunehmend Bedeutung erlangt. Mit der Hoffnung, dass sich hierdurch auch für die Charakterisierung von MSC neue Möglichkeiten eröffnen, haben wir bereits in einer ersten Studie sondiert, ob unter den Phospholipiden potentielle Marker zu finden sind. Tatsächlich zeigten sich hierbei vielversprechende Ergebnisse. So könnte Phosphatidylglycerol (PG) als spezieübergreifend anwendbarer MSC-Marker gut geeignet sein (Burk et al., 2021; <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.784405>).

Ziel der Studie

Ziel der Studie ist die Überprüfung der Hypothese, dass sich PG als Marker für equine MSC eignet. Zudem sollen einfach durchführbare Nachweismethoden etabliert und untersucht werden, inwieweit der PG-Gehalt von MSC mit ihrer Potenz korreliert.

Klinische Relevanz

Wenn es sich auch um ein Laborprojekt handelt, so ist doch eine hohe und direkte klinische Relevanz gegeben. Um regenerative, MSC-basierte Therapien weiterzuentwickeln und die Evidenzlage zu ihrer Anwendung zu verbessern, ist es wichtig, das Zelltherapeutikum bestmöglich zu standardisieren. Dies wird in einem zufriedenstellenden Ausmass aber nur gelingen, wenn Marker identifiziert werden, die eine eindeutige Charakterisierung der MSC erlauben. Darüber hinaus wäre eine gleichzeitige Aussage zur Potenz der Zellen auf Basis des Markers äusserst hilfreich, um die MSC-Therapie mit bestmöglicher Wirkung anzuwenden.

Bisherige Ergebnisse

Im letzten Jahr haben wir zwei Arbeitsschwerpunkte gesetzt – zum einen die Vorbereitung verschiedener Zellproben für die quantitative Messung von PG mittels Massenspektrometrie und zum anderen, wie im Vorjahr schon begonnen, die Etablierung eines einfach anwendbaren Assays für die Messung von PG. Zu letzterem wurden bereits verschiedene Assays getestet. Der zunächst favorisierte enzymatische Assay zeigt allerdings bislang noch keine ausreichend reproduzierbaren Ergebnisse im niedrigen Konzentrationsbereich, wenn auch die Messung von PG in Positivkontrollproben (*E. coli*) gelang. Daher finden laufend Arbeiten zur Optimierung der Assay-Prozeduren statt, gleichzeitig arbeiten wir jedoch auch an einer Assay-Alternative basierend auf Morita et al., 2015. Für die quantitative Messung von PG mittels Massenspektrometrie wurden neben den equinen MSC auch Fibroblasten und Chondrozyten aus frischem Probenmaterial isoliert. Ausserdem wurde ein Protokoll etabliert, mit dem die Mitochondrien in den MSC gezielt stimuliert werden (siehe Abb.), um die Korrelationen zwischen Mitochondriendichte, Zellfunktion und PG-Gehalt überprüfen zu können. Die Messungen der stimulierten und nichtstimulierten MSC und Kontrollzellen mittels MS sollen im zweiten Quartal 2025 stattfinden.

Ausblick

Sofern sich unsere Hypothese bestätigt, wird das Projekt ein einfach anwendbares und aussagekräftiges Kriterium für die Definition equiner MSC in Forschung und Therapie liefern.