

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	4
1.1	Mesenchymale Stammzellen aus der Speicheldrüse	4
2	Literaturübersicht.....	6
2.1	Tumoren im Kopf-Hals-Bereich.....	6
2.1.1	Epidemiologie und Risikofaktoren	6
2.1.2	Einteilung nach Lokalisation, Ausdehnung (TNM-System) und histologischem Differenzierungsgrad (Grading).....	6
2.1.3	Diagnose, Therapie und Prognose	8
2.2	Speicheldrüsen.....	10
2.2.1	Aufbau, Funktion.....	10
2.2.1.1	Glandula parotidea.....	11
2.2.1.2	Glandula submandibularis	12
2.2.1.3	Glandula sublingualis	12
2.3	Xerostomie.....	12
2.3.1	Definition.....	12
2.3.2	Ursachen	13
2.3.3	Folgen	14
2.3.4	Therapie	15
2.4	Stammzellen	19
2.4.1	Stammzellen im Überblick	19
2.4.2	Embryonale Stammzellen.....	20
2.4.3	Adulte Stammzellen	21
2.4.3.1	Hämatopoetische Stammzellen.....	22
2.4.3.2	Mesenchymale Stammzellen	25
2.4.3.2.1	Potentiale mesenchymale Stammzellmarker und deren Funktion.....	27
2.4.3.2.1.1	CD13.....	27
2.4.3.2.1.2	CD29.....	28
2.4.3.2.1.3	CD44.....	28
2.4.3.2.1.4	CD54.....	28
2.4.3.2.1.5	CD73.....	29
2.4.3.2.1.6	CD90.....	30
2.4.3.2.1.7	CD105.....	30
2.4.3.2.1.8	CD106.....	30
2.4.3.2.1.9	CD140b.....	31
2.4.3.2.1.10	CD166.....	31
2.4.3.2.1.11	Stro-1	31
2.4.3.2.1.12	Differenzierungsmechanismen mesenchymaler Stammzellen	32
2.4.3.2.2	Adipogenese	33
2.4.3.2.2.1	<i>In vitro</i> Adipogenese	35
2.4.3.2.3	Chondrogenese	36
2.4.3.2.3.1	<i>In vitro</i> Chondrogenese	40
2.4.3.2.4	Osteogenese	41
2.4.3.2.4.1	<i>In vitro</i> Osteogenese	44

3	Material und Methoden	45
3.1	Material.....	45
3.1.1	Antikörper.....	45
3.1.1.1	Antikörper für die Immunhistochemie	45
3.1.1.2	Antikörper für die Durchflusszytometrie	45
3.1.2	Färbelösungen.....	45
3.1.3	Geräte.....	46
3.1.4	Gewebepröben	46
3.1.5	Kits.....	47
3.1.6	Molekularbiologische Chemikalien.....	47
3.1.7	Primer	47
3.1.8	Reagenzien.....	47
3.1.9	Verbrauchsmaterial.....	49
3.1.10	Zellkulturmedien	50
3.1.10.1	Stammzellmedium	50
3.1.10.2	Adipozyten-Induktionsmedium	50
3.1.10.3	Adipozyten-Erhaltungsmedium.....	50
3.1.10.4	Osteoblasten-Induktionsmedium	51
3.1.10.5	Chondroyten-Induktionsmedium	51
3.1.10.6	Einfriermedium.....	51
3.2	Methoden	52
3.2.1	Zellbiologische Methoden	52
3.2.1.1	Isolierung mesenchymaler Stammzellen aus Speicheldrüsen	52
3.2.1.2	Kultivierung mesenchymaler Stammzellen.....	52
3.2.1.3	Differenzierung mesenchymaler Stammzellen.....	53
3.2.1.3.1	Adipogene Differenzierung	53
3.2.1.3.2	Osteogene Differenzierung	53
3.2.1.3.3	Chondroge Differenzierung	54
3.2.1.4	Bestimmung der Zellzahl	54
3.2.1.5	CFU-F-Assay.....	55
3.2.2	FACS-Analyse.....	55
3.2.2.1	Phänotypisierung von MSC mittels Durchflusszytometrie	61
3.2.2.2	Zellzahlbestimmung von mesenchymalen Stammzellen mit Hilfe von	63
3.2.2.3	Durchflusszytometrische Zellgrößenbestimmung	65
3.2.2.4	Durchflusszytometrische Bestimmung der Stro-1- und Alkalischen Phosphatase-Expression	66
3.2.3	Histologische und Immunhistologische Färbungen	68
3.2.3.1	Histologische Färbetechniken.....	68
3.2.3.1.1	Alkalische Phosphatase	68
3.2.3.1.2	Alcianblau.....	68
3.2.3.1.3	Sudan III	69
3.2.3.2	Immunhistochemische Färbungen	69
3.2.3.2.1	Osteopontin.....	69
3.2.3.2.2	Bone sialoprotein	70
3.2.3.2.3	Kollagen.....	70
3.2.3.2.4	SV-40-Färbung	71
3.2.4	Molekularbiologische Methoden	72
3.2.4.1	RT-PCR	72

4	Ergebnisse	75
4.1	Mesenchymale Stammzellen aus der Speicheldrüse	75
4.1.1	Isolierung humaner MSC	75
4.1.2	Kulturverlauf humaner MSC	75
4.1.3	Fibroblast colony-forming unit-assay	77
4.1.4	Präsentation von Oberflächenmarkern	77
4.1.5	Natives Speicheldrüsengewebe	83
4.1.6	Multipotentes Differenzierungspotential humaner MSC	83
4.1.7	Etablierung eines Xerostomie-Mausmodels	89
5	Diskussion	93
5.1	Mesenchymale Stammzellen aus der Speicheldrüse	93
5.2	Charakterisierung mesenchymaler Stammzellen	96
5.3	Speicheldrüsengewebe	97
5.4	Mesenchymale Stammzellen <i>in vivo</i>	98
5.5	Therapeutische Ansätze für die Nutzung mesenchymaler Stammzellen in der regenerativen Medizin	103
5.5.1	Lokale Implantation	103
5.5.2	Systemische Transplantation	104
5.5.3	Die Kombination von Stammzellen und Gentherapie	105
5.5.4	Tissue engineering	107
6	Zusammenfassung	109
7	Summary	110
8	Literaturverzeichnis	111
9	Abkürzungsverzeichnis	138
10	Abbildungsverzeichnis	141
11	Tabellenverzeichnis	143
12	Publikationsverzeichnis	146
13	Danksagung	147
14	Selbständigkeitserklärung	148