

# Inhalt

Symbolverzeichnis.....	ixv
Zusammenfassung .....	1
1. Einleitung .....	3
1.1. Stammzellen .....	3
1.1.1. Mesenchymale Stammzellen .....	4
1.1.2. Weitere Stammzellklassen.....	8
1.1.3. Migration und Homing von MSC.....	13
1.1.4. Markierungsmethoden für Zellen und Bildgebungsverfahren.....	16
1.1.5. Klinische Anwendung .....	18
1.1.6. Immunregulatorische Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen ....	19
1.1.7. MSC und Therapie von Autoimmunerkrankungen .....	23
1.2. Multiple Sklerose .....	27
1.2.1. Pathologie und Pathophysiologie .....	28
1.2.2. Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (EAE).....	31
1.3. Vorgehensweise und Ziele der Arbeit .....	34
2. Material und Methoden.....	37
2.1. Chemikalien, Enzyme und Seren .....	37
2.2. Kits .....	39
2.3. Gebrauchswaren .....	40
2.4. Medien für die Zellkultur .....	41
2.5. Sonstige Lösungen .....	42
2.6. Geräte .....	43

2.7. MSC Charakterisierung.....	44
2.7.1. MSC Isolation und Klonierung .....	44
2.7.2. Kryokonservierung und Auftauen von Zellen .....	45
2.7.3. Differenzierung der MSC <i>in vitro</i> .....	45
2.7.4. Immunphänotypisierung mittels Durchflusszytometrie (FACS).....	48
2.7.5. Colony-forming Unit Assay (CFU) für humane MSC .....	52
2.7.6. Bestimmung der Migrationsrate .....	53
2.7.7. Differenzierungspotenzial Eisen-markierter MSC von DA Ratten .....	53
2.7.8. Eisen-Markierung von Ratten MSC mit Resovist mithilfe von jetPEI™ .....	56
2.8. Markierung von MSC und Homing.....	58
2.8.1. Quantifizierung der totalen Eisenbeladung der Ratten MSC durch Photometrie.....	58
2.8.2. SPIO-Markierung humaner MSC.....	58
2.8.3. PKH26 Färbung von DA Ratten MSC .....	59
2.8.4. Injektion der SPIO in DA Ratten.....	60
2.9. Bildgebung der SPIO-markierten MSC durch Magnet-Resonanz-Imaging.....	60
2.9.1. Grundlagen .....	60
2.9.2. 7 und 3 Tesla-MRT von DA Ratten .....	65
2.10. Bestimmung von Blutgruppenantigenen auf humanen MSC.....	66
2.11. Induktion der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis.....	69
2.12. Immunologische Methoden.....	70
2.12.1. Isolierung und Kultivierung mononukleärer Zellen aus der Milz.....	70
2.12.2. Assay der Antigen-induzierten Proliferation.....	70
2.12.3. Enzyme-linked immunospot (ELISPOT) für IFN- $\gamma$ .....	71
2.12.4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).....	72
2.13. Histologie .....	72
2.13.1. Gewebeeinbettung und histologische Schnitte .....	72
2.13.2. Eisenfärbung nach dem Prussian Blue Protokoll .....	74
2.13.3. Klüver-Barrera-Färbung .....	75
3. Ergebnisse.....	77
3.1. Differenzierung von Ratten MSC in Adipozyten, Osteoblasten und Chondrozyten .....	77

3.2. Immunphänotypisierung der Ratten MSC.....	81
3.3. Real-time PCR: Einfluss der Eisenmarkierung auf das Differenzierungspotenzial .....	85
3.4. Klinischer Verlauf der EAE .....	86
3.4.1. Immunologische Ergebnisse des 1. EAE Experimentes.....	88
3.4.2. FACS Analyse der Lymphknoten .....	90
3.5. Klinischer Verlauf des 2. EAE Experimentes .....	92
3.5.1. Immunologische Ergebnisse des 2. EAE Versuchs.....	98
3.6. Effekt von Resovist auf die EAE .....	101
3.7. Homing JPR-markierter und unmarkierter MSC während der EAE.....	103
3.8. Verhältnis der MRI Signalintensitäten am Tag 2 und 8 .....	108
3.9. Einfluss der Zellmarkierungen auf die Differenzierungsfähigkeit: Trilineage Differenzierung humaner MSC.....	112
3.10. Expression des H-Antigens auf humanen GD2 <sup>+</sup> MSC.....	115
4. Diskussion.....	121
4.1. Pathologische Prozesse der EAE.....	121
4.2. Migration und Wirkung von MSC in der EAE .....	125
4.2.1. Migration von MSC.....	125
4.2.2. Reparaturmechanismen unmarkierter MSC .....	126
4.2.3. Kein positiver Effekt prophylaktisch applizierter MSC: mögliche Gründe .....	134
4.2.4. Auswirkungen der Transplantation 93 p.i. auf T-Zellen .....	135
4.2.5. Effekte SPIO-markierter MSC auf die EAE.....	136
4.3. SPIO-Markierung, Transfektionsagenzien und Auswirkungen auf MSC.....	142
4.4. Expression von Blutgruppengenen und Antigenen auf hMSC .....	144
4.5. Bewertung der Versuche und Ausblick.....	148
5. Literatur .....	151
6. Liste der Veröffentlichungen .....	173
7. Danksagung .....	175